

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ EN PHARMACIE

par

Dominique COMAR

DOSAGE DE L'IODE DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES
AU MOYEN DE L'ANALYSE PAR RADIOACTIVATION

Soutenue le 29 Juin 1962 devant la Commission d'examen

Jury :	MM. GUILLOT	Président
	COURTOIS	Professeur
	RENAULT	Professeur

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ EN PHARMACIE

par

Dominique COMAR



DOSAGE DE L'IODE DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES
AU MOYEN DE L'ANALYSE PAR RADIOACTIVATION

Soutenue le 29 Juin 1962 devant la Commission d'examen

Jury :	MM. GUILLOT	Président
	COURTOIS	Professeur
	RENAULT	Professeur

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. G. VALETTE	Doyen, O. ✱, C. ☉.
M.-M. JANOT	Assesseur, ✱, C. ☉.
L. RODINEAU	Secrétaire Général, ✱, O. ☉.
L. JEANDEL	Secrétaire Général-adjoint, O. ☉.
M ^{mes} S. CERTAIN	Secrétaire, O. ☉.
M.-L. ESPINASSE	Secrétaire, O. ☉.
M. G. FROISSART	Secrétaire, ☉.

DOYEN HONORAIRE

M. René FABRE, Membre de l'Institut, C. ✱, C. ☉.
--

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. M. DELÉPINE, Membre de l'Institut, C. ✱, C. ☉.
L. LAUNOY, O. ✱, O. ☉.
P. FLEURY, O. ✱, C. ☉.
M. MASCRÉ, O. ✱, C. ☉.
M. PICON, O. ✱, O. ☉.
C. BEDEL, ✱, O. ☉.
R. FABRE, Membre de l'Institut, C. ✱, C. ☉.

PROFESSEURS

MM. M.-M. JANOT, ✱, C. ☉.	Pharmacie galénique (T.).
G. VALETTE, O. ✱, C. ☉.	Pharmacodynamie (T.).
R. PARIS, ✱, O. ☉	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.).
M. GUILLOT, ✱, O. ☉..	Physique (T.).
J.-A. GAUTIER, ✱, O. ☉.	Chimie organique (T.).
M ^{lle} S. LAMBIN, ✱, O. ☉ ..	Microbiologie (T.).
MM. Y. RAOUL, ✱, O. ☉ ..	Physiologie (T.).
J. COURTOIS, ✱, O. ☉.	Chimie biologique (T.).
L. DOMANGE, ✱, O. ☉.	Chimie minérale (T.).
P. CRÉTÉ, ✱, O. ☉	Botanique (T.).
R. TRUHAUT O. ✱, O. ☉.	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.).
A. MORETTE, ✱, O. ☉.	Hydrologie (T.).
R. CAVIER, O. ☉	Parasitologie (T.).
A. QUEVAUVILLER O. ☉.	Hygiène et Education sanitaire (T.).
R. MOREAU, ✱, O. ☉..	Pharmacie chimique (T.).
J. GUY, O. ☉	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T. P.).
A. GERMAN, O. ☉	Virologie et Sérologie (T. P.).

M. PIETTE, O. ☉	Biologie sanguine (T. P.).
P. MALANGEAU, O. ☉..	Chimie analytique (T.).
M. GIRARD, O. ☉	Chimie appliquée à l'expertise (T.).
G. DILLEMANN	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.).
G. DEYSSON, O. ☉	Cytologie végétale (T. P.).
J. FLAHAUT, ☉	Minéralogie (T. P.).
C. BOUDÈNE	Professeur sans chaire.
A. LE HIR	Professeur sans chaire.
J. RENAULT, ☉	Professeur sans chaire.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. Y. COHEN	Sciences naturelles.
P. LARUELLE	Physique.
G. LE MOAN	Toxicologie.
P. ROSSIGNOL	Pharmacodynamie.
H. RENAULT, O. ☉	Pharmacie chimique.
C. PAOLETTI	Sciences appliquées.
A. MANGEOT, O. ☉	Chimie analytique.
P. DELAVEAU	Matière médicale.
P. REYNAUD	Sciences physico-chimiques.
J. POISSON	Sciences naturelles.
A. DESVIGNES, ☉	Microbiologie.
F. PERCHERON	Biochimie.
J. SAVEL	Sciences naturelles.
J. BORY	Sciences naturelles.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. P. BINET	Parasitologie.
P. GESTEAU, ✱, O. ☉..	Physique biologique.
J. GOUNELLE	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section biologie).
J. HARISPE, O. ☉.....	Chimie générale et pharmaceutique.
J. HENRY	Chimie (4 ^e année).
M ^{me} J. HUBERT	Microbiologie.
MM. R. LELUC	Microbiologie.
M. LEMONNIER	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
M ^{lle} S. LONGUEVALLE, O. ☉	Service des examens de Chimie.
MM. F. PELLERIN	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
R. PERLES (F. Fonc.)	Chimie biologique.
J. PESTIS (F. Fonc.) ..	Biologie animale.
R. POULLAIN	Hématologie.
J. RIVET (F. Fonc.) ..	Physique.
M ^{me} M. ROBERT	Sérologie.
M ^{lle} A. ROLLEN, ✱, O. ☉..	Biologie végétale.
L. SEGUIN (F. F.) O. ☉	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section physico-chimie).
M ^{me} M. SEILLER (F. Fonc.)	Pharmacie galénique industrielle.
M. J. YONGER (F. Fonc.)..	Chimie analytique (1 ^{re} année).

**INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE
ET DE PHARMACODYNAMIE**

M.	A. CAVÉ	Chef de travaux de Pharmacotechnie galénique.
M ^{lle}	H. MORIN, O. ☉	Chef de travaux de Pharmacodynamie.
M.	M. ROBBA	Chef de travaux de Pharmacotechnie chimique.

BIBLIOTHÈQUE

M ^{lle}	Y. RUYSSSEN, *, O. ☉ ..	Conservateur, chargée de la Direction.
M ^{lle}	S. LAVAUD, O. ☉	Conservateur.
M ^{mex}	G. KREHMER, O. ☉	Conservateur.
	A. DESGRIPPES, O. ☉ ..	Bibliothécaire.

Ce travail a été effectué au Centre d'Application Médicale du Département de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique (Service Frédéric Joliot - Hôpital d'Orsay).

A ma femme,

A mes enfants,

A mon père, dont la vie est et restera pour nous un magnifique exemple,

A ma famille,

A mes beaux parents et à toute leur famille, au sein de laquelle ils m'ont chaleureusement accueilli.

A mon Président de Thèse,

Monsieur le Professeur M. GUILLOT

Vous nous avez fait le très grand honneur d'accepter de présider notre Jury de Thèse. Nous vous dédions ce travail en témoignage de notre respectueux attachement.

A Monsieur le Professeur J. COURTOIS

Vous avez bien voulu faire partie de notre Jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur H. RENAULT

Nous vous remercions tout particulièrement d'avoir bien voulu faire partie de notre Jury de thèse.

A Monsieur le Professeur J. COURSAGET

Chef du Département de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique.

A Monsieur le Docteur P. FALLOT

Chef de département adjoint - Département de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique.

Vous avez bien voulu nous accepter parmi les équipes de chercheurs que vous dirigez ; permettez-nous de vous témoigner ici l'expression de notre reconnaissance pour toute la sollicitude dont vous nous avez entouré, tant sur le plan humain que sur celui de votre direction scientifique.

A Monsieur le Professeur C. KELLERSHOHN

Vous avez bien voulu nous conseiller le sujet de ce travail, nous encourager dans sa réalisation en nous faisant part de votre grande expérience et de votre rigueur scientifique.

Une simple dédicace ne peut être qu'un reflet bien timide de la reconnaissance et du respectueux attachement que nous vous portons.

A Monsieur le Professeur A. MANGEOT

Vous nous avez accueilli avec une particulière bonté dans votre laboratoire comme interne en en pharmacie.

Permettez-nous de vous remercier pour toute la sollicitude que vous nous avez témoignée, et vous dire ici notre respectueux attachement.

A mes camarades de travail :

A. DESGREZ

D. RAYNAUD

P. de VERNEJOUL

a C. LE POEC et Melle M. JOLY

A tout le personnel du Service Frédéric JOLIOT

Qu'ils reçoivent ici l'expression de nos remerciements pour toute l'aide qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer.

INTRODUCTION

Il est incontestable que l'étude du fonctionnement thyroïdien ne peut être faite de façon valable que si l'on met en jeu des méthodes d'analyses variées.

En particulier, l'importance de la détermination de l'iode dans les tissus pour l'étude de la physiopathologie thyroïdienne est bien connue, d'une part, parce que le taux d'iode sanguin est un bon index de l'état fonctionnel de la glande et, d'autre part, parce qu'elle permet d'étudier les mouvements et la répartition de cet élément entre les différents tissus, par la mesure de la radioactivité spécifique au cours d'études cinétiques utilisant l'iode radioactif comme indicateur.

Or, le taux extrêmement faible de l'iode dans les tissus biologiques à l'exception du tissu thyroïdien, fait que les méthodes de dosages mises au point n'utilisant pas la radioactivité et constamment modifiées en vue de leur amélioration, sont très délicates à mettre en oeuvre et conduisent à des résultats souvent peu précis, les mesures se faisant toujours au voisinage de la sensibilité limite de la réaction utilisée.

Parmi les méthodes d'analyse nouvelles, l'analyse par radioactivation, dont le développement est lié à celui des réacteurs nucléaires, est, à l'heure actuelle, la méthode de choix pour le dosage des éléments à l'état de traces.

L'étude des propriétés nucléaires de l'iode 127 et la possibilité de disposer d'un flux de neutrons très important susceptible de radioactiver l'iode naturel en iode 128 radioactif avec un très bon rendement, nous ont conduit à mettre au point une méthode nouvelle applicable au dosage de cet élément dans les tissus biologiques.

Dans une première partie, nous ferons une étude critique des principales méthodes chimiques existantes. Au cours de la deuxième partie, nous développerons le principe et la mise au point du dosage de l'iode par analyse par radioactivation dont nous comparerons les résultats avec ceux obtenus par une méthode chimique. Nous exposerons dans la troisième partie quelques applications de cette méthode au dosage de l'iode sous différentes formes chimiques et dans différents milieux.

CHAPITRE I

ÉTUDE CRITIQUE DES MÉTHODES CHIMIQUES DU DOSAGE DE L'IODE DANS LES TISSUS BIOLOGIQUES

L'iode dans les tissus biologiques se trouve en majeure partie sous forme organique et ne peut donc être déterminé qu'après une minéralisation. La teneur en iode minéral ainsi obtenu, purifié par distillation ou non, est déterminée par titrimétrie ou colorimétrie classique, soit depuis les recherches de Sandell et Koltoff [1] par son action catalytique sur la vitesse de réduction du sulfate cérique par l'anhydride arsénieux :



la vitesse de cette réaction, faible en l'absence de catalyseur, est accrue en présence de très petites quantités d'iode. Ceci se traduit expérimentalement par une diminution progressive, plus ou moins rapide suivant les quantités d'iode présentes, de la densité optique du mélange des réactifs; due à la transformation des sels cériques jaunes en sels céreux incolores. ;

Les méthodes décrites, destinées particulièrement au micro-dosage de l'iode sanguin, peuvent être classées en plusieurs groupes :

1 - METHODES PAR MINERALISATION ALCALINE -

La substance organique est alcalinisée, séchée puis calcinée au four à moufle ; l'iode est ainsi transformé en iodure alcalin peu volatil. Il est ensuite titré directement après extraction du résidu.

L'alcali utilisé est généralement un carbonate alcalin [2] [3] [4] mais la soude et la potasse sont également employées.

Une étude comparative a été faite [5] [6] des différents alcalis utilisables et les pertes d'iode déterminées grâce à l'iode 131 ont été mesurées dans les différents cas. Les résultats montrent que les conditions opératoires doivent être extrêmement strictes pour éviter des pertes importantes d'iode.

Cette destruction alcaline a été la plus utilisée pendant très longtemps mais le titrage final de l'iode effectué à l'aide d'une méthode volumétrique peu sensible nécessite, pour être précis, une prise d'essai importante, donc de fortes quantités de réactifs introduisant ainsi un blanc de réactif élevé.

L'accroissement de sensibilité apporté par la réaction catalytique permettant de diminuer la prise d'essai fait que cette technique par destruction alcaline semble très séduisante car elle ne nécessite par d'appareillage compliqué et se prête aux dosages en série.

2 - METHODES PAR MINERALISATION ACIDE -

L'oxydation de la matière organique est effectuée, à chaud, en milieu sulfurique. L'oxydant utilisé est variable : il peut être le permanganate de potassium [7] mais c'est généralement l'acide chromique [8] [9] [10] [11] [12] [13] [14].

L'iode est transformé en acide iodique peu volatil. L'excès d'oxydant et l'acide iodique sont ensuite réduits à l'aide d'un réducteur convenable qui est généralement l'acide phosphoreux.

L'iode ainsi libéré sous forme volatile (il se forme vraisemblablement un mélange d'iode ,

d'acide iodhydrique et d'acide hypoiodéux) est alors distillé dans un appareil clos, ou bien soumis à une diffusion isotherme [14] dans une cellule du type Conway. L'iode est piégé dans la soude ou directement dans l'anhydride arsénieux utilisé pour la réaction catalytique.

La réaction colorée est la partie délicate du dosage car, ou bien on utilise la méthode classique de coloration de l'amidon par l'iode et titrage par l'hyposulfite [16] [17] et alors la sensibilité est très mauvaise (une analyse nécessite une prise d'essai de sang de 10 à 15 ml) ou bien, depuis Chaney [8], on utilise la réaction de Sandell et Kolthoff [1] qui n'est malheureusement pas entièrement spécifique de l'iode.

Les conditions d'utilisation de cette réaction ont été très bien étudiées par Lachiver [18]. L'influence de différents ions et en particulier du chlore a été mise en évidence par Barker [12].

Enfin, récemment, [19] [20], le sulfate de brucine a été utilisé pour stabiliser la coloration de la réaction catalytique facilitant ainsi la mesure d'échantillons en série.

3 - DISCUSSION DES METHODES CHIMIQUES -

Les améliorations apportées à la technique originale de Sandell et Kolthoff ont principalement pour objet :

- l'extraction de l'iode de la matière organique
- la stabilisation ou l'augmentation de la sensibilité de la réaction colorée.

a) Minéralisation et distillation.

La minéralisation acide suivie de la distillation de l'iode semble une méthode préférable puisqu'on soumet à la réaction colorée une solution ne contenant que de l'iode, aucun autre élément contenu dans le sang n'ayant pu être distillé dans les conditions opératoires utilisées. Par contre, les inconvénients principaux de cette méthode, et qui sont particulièrement délicats à éviter, sont :

1/ La difficulté d'apprécier le terme de la minéralisation. Une minéralisation incomplète ne libère pas tout l'iode sous forme minérale et la distillation qui suit n'est pas quantitative. Une minéralisation trop poussée entraîne par contre une précipitation des sels de chrome qui absorbent probablement l'iode minéralisé car celui-ci n'est plus distillable.

2/ Les pertes occasionnées par la distillation. La distillation elle-même conduit rarement à une récupération de la totalité de l'iode comme le font remarquer de nombreux auteurs [8] [11] [12].

3/ L'ensemble de ces deux opérations, minéralisation-distillation, nécessite une quantité importante de réactifs (acide sulfurique, anhydride chromique, acide phosphoreux) qu'il est très difficile d'obtenir exempts d'iode.

Taurog et Chaikoff [11] remarquent en outre que la richesse du milieu en matière organique semble avoir une influence favorable sur la transformation de l'iode organique en iode puis en acide iodique ; aussi, ajoutent-ils de la farine contenant le moins possible d'iode lorsque le milieu qu'ils analysent est très pauvre en matière organique.

La nécessité d'un blanc de réactif s'impose donc et diminue la précision de la méthode.

Chaney [8] estime que la concentration moyenne en iode de son blanc de réactif (25 cm³ de H₂SO₄ + 3 cm³ de CrO₃ 60 p. 100) est de 0,03 µg.

Dans la méthode préconisée par Taurog [11] le blanc de réactif contient environ 0,01 µg pour une quantité de réactif voisine de celle utilisée par Chaney. Spitzzy [14], Lachiver [18], trouvent également la même valeur.

La minéralisation alcaline préconisée par Barker évite, au moins en partie, ce dernier inconvénient, puisqu'un seul réactif est utilisé : le carbonate de sodium. La réaction colorée est pratiquée directement sur le résidu de minéralisation mis en solution, ce qui évite une partie des pertes (comparativement à la distillation précédente).

Les prises d'essai dans ces méthodes sont de l'ordre de 0,5 cm³ à 2 cm³ de sérum mais la réaction colorée ne se fait que sur une fraction de cette prise d'essai en raison des dilutions rendues nécessaires lors de la distillation ou de la remise en solution du minéralisat alcalin, la sensibilité se trouve donc diminuée.

b) Réaction colorée.

La vitesse de cette réaction d'oxydo-réduction n'est malheureusement pas uniquement influencée par l'iode ; encore faut-il que celui-ci se trouve sous forme d'iodure ; les différentes formes organiques sous lesquelles l'iode se trouve dans les milieux biologiques ont une influence différente sur la vitesse de décoloration du sulfate cérique. Cependant, Block et Werner [21] après avoir calculé les coefficients correspondant aux acides aminés iodés plasmatiques ont pu mesurer, avec une certaine précision et directement, l'iode organique séparé par chromatographie sur papier.

Lorsque la coloration est précédée par une minéralisation, il semble logique de penser que les méthodes utilisant la distillation soient plus spécifiques que les autres. Pourtant les résultats obtenus par l'une ou l'autre semblent comparables. Il est indispensable toutefois que la composition du milieu réactionnel soit exactement la même pour les différents échantillons et les étalons [18].

4 - SENSIBILITE ET PRECISION DES METHODES CHIMIQUES -

Etant donné la très faible quantité d'iode présente dans les tissus biologiques, une méthode de dosage très sensible est indispensable. Cependant, il semble très difficile d'obtenir des réactifs de grande pureté et d'éviter les contaminations dues à l'iode toujours présent dans un laboratoire. Ce sont principalement ces deux facteurs qui limitent la sensibilité à la concentration de l'iode dans les blancs.

Chez le sujet normal, l'iodémie varie de 0,04 à 0,08 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; la prise d'essai soumise à la réaction colorée est de l'ordre de 0,5 cm^3 et contient de 0,02 à 0,04 μg . D'autre part, l'iode contenu dans les réactifs est de l'ordre de 0,01 μg . Il est donc aisé de conclure qu'à des taux inférieurs à 0,01 μg , la précision de la méthode devient extrêmement douteuse quoique la sensibilité de la réaction catalytique soit de l'ordre de 0,0002 μg [18]. Même à des taux plus élevés correspondant à des valeurs normales ou même élevées de l'iodémie, la précision n'est pas très bonne quoique tout à fait suffisante pour les besoins de la clinique courante. D'ailleurs, peu de travaux ont porté sur l'étude de la précision des méthodes chimiques [22] et cette dernière ne peut être appréciée à l'avance, mais seulement dans chaque cas particulier, par l'étude statistique des résultats.

CHAPITRE II

DOSAGE DE L'IODE PAR ANALYSE D'ACTIVATION

L'analyse par radioactivation appliquée au dosage de l'iode dans les milieux biologiques n'a, jusqu'à présent, fait l'objet que de très rares travaux [23] [24].

Bowen, en 1959, [25] décrit une méthode de dosage des halogènes dans la graine de tomates. Ayant appliqué sa technique au sang, il donne quelques résultats obtenus chez le sujet normal. Ce premier travail fait partie d'une étude systématique du dosage de nombreux éléments dans les milieux biologiques et aucune précision particulière, à l'exception de la sensibilité, n'est donnée sur la reproductibilité, la spécificité du dosage de l'iode.

Récemment, Wagner et Will [26] ont utilisé l'analyse par radioactivation pour mesurer l'iode urinaire chez des sujets soumis à des études métaboliques. La méthode décrite, de mise en oeuvre simple, est cependant limitée à des échantillons liquides ne contenant que de l'iode minéral et sa sensibilité est faible. Dimitriadou et coll. [27] ont utilisé l'analyse par radioactivation pour doser l'iode extrait du sang et séparé par chromatographie sur papier. Ils ne donnent cependant aucun détail technique sur la méthode utilisée.

Enfin, Tobias [28] propose une méthode de dosage de l'iode protéique sérique. Un passage du sérum sur une résine échangeuse d'ions faiblement basique permet de séparer l'iode protéique des anions minéraux gênants, principalement du chlore. Un dispositif de mesure de la radioactivité est décrit, mais aucun résultat n'est donné.

L'implantation d'un laboratoire de biochimie à proximité d'un réacteur nucléaire est indispensable pour mener à bien le dosage de l'iode dans les tissus biologiques et c'est vraisemblablement une des raisons pour lesquelles très peu de travaux ont été publiés jusqu'à présent dans ce domaine.

Lorsqu'on soumet un élément naturel à un flux de particules nucléaires, il peut se transformer, soit en un autre élément naturel, soit en un isotope radioactif, soit enfin en un autre élément différent également radioactif. La période de désintégration du radioélément formé est une caractéristique de celui-ci et peut varier dans des limites considérables : de quelques fractions de seconde à plusieurs milliers d'années. La radioactivité des premiers est difficile à mesurer car elle disparaît très rapidement, quant à celle des derniers, elle est souvent faible par unité de masse et sa mesure ne permet pas d'atteindre de grandes sensibilités.

Pour les radioéléments de période intermédiaire qui sont les plus nombreux, il est particulièrement intéressant de pouvoir les mesurer dès leur formation au moment où leur radioactivité est maxima, c'est-à-dire de pouvoir disposer des appareils de mesure le plus près possible du générateur de radioéléments.

L'intensité de la radioactivité qui va être formée au cours de l'irradiation et qui est proportionnelle au flux de particules utilisées et à la masse de l'élément mise en jeu est également fonction de la probabilité qu'à la particule incidente de rencontrer le noyau cible. Cette probabilité ou section efficace, est une caractéristique de chaque élément vis-à-vis de la réaction nucléaire considérée. Si elle est très faible, le radioélément ne se forme pas, si elle est grande au contraire, la quantité de radioélément formé sera importante.

La notion de durée de l'irradiation est également un point important à considérer. En effet, à mesure que le radioélément se forme, il se désintègre avec sa période propre et si le bombardement est poursuivi pendant un certain temps, il arrivera un moment où il se désintégrera autant de noyaux radioactifs qu'il s'en formera. Le temps nécessaire pour obtenir cette saturation est proportionnel à la période du radioélément qui se forme. Elle est atteinte très rapidement pour les isotopes à vie courte, par contre, pour les isotopes à vie longue, il est souvent difficile d'attendre le temps suffisant pour que cette saturation qui correspond à la radioactivité maxima qu'il est possible d'obtenir soit atteinte et le temps imparti à l'irradiation sera un compromis entre la sensibilité avec laquelle on désire faire la mesure et le temps dont on peut disposer.

L'iode, par rapport aux différents paramètres que nous venons d'étudier, se comporte comme un élément intéressant. La période de 25 minutes du radioélément auquel il donne naissance par bombardement aux neutrons lents permet d'envisager une irradiation relativement courte. Cependant, la mesure de la radioactivité devra être pratiquée rapidement si l'on veut une bonne sensibilité. Cette sensibilité sera d'ailleurs principalement fonction du flux de particules utilisé pour l'irradiation et c'est grâce au développement des grands réacteurs nucléaires dont les flux de neutrons lents atteignent, à l'heure actuelle, quelques 10^{13} n/cm²/s que de très nombreux éléments peuvent être ainsi détectés par l'analyse par radioactivation.

Dans un premier chapitre, nous établirons rapidement les formules de l'analyse par radioactivation qui nous permettront, après avoir exposé dans un deuxième chapitre la technique que nous avons mise au point, de discuter celle-ci et de la comparer aux méthodes classiques décrites précédemment.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous exposerons les applications de cette méthode au dosage de l'iode dans différents milieux et sous les diverses formes chimiques sous lesquelles il se trouve dans les milieux biologiques.

1 - PRINCIPE DE L'ANALYSE PAR RADIOACTIVATION -

L'analyse par radioactivation consiste à irradier l'échantillon dans lequel se trouve l'élément que l'on désire mesurer, séparer celui-ci des autres éléments également présents dans l'échantillon, mesurer sa radioactivité induite et calculer la concentration de l'élément dans l'échantillon.

Nous étudierons donc successivement :

- l'irradiation
- le traitement chimique
- la mesure de la radioactivité.

Le calcul de la concentration de l'élément dans l'échantillon sera établi ultérieurement en fonction de la technique utilisée pour la mesure de la radioactivité.

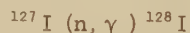
A - IRRADIATION -

La radioactivité formée au cours du bombardement peut être calculée si l'on connaît les caractéristiques nucléaires de l'élément considéré ainsi que le flux de neutrons utilisé.

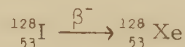
Dans le cas de l'iode qui nous intéresse, la réaction nucléaire avec les neutrons thermiques est la suivante :



réaction qui s'exprime généralement de la façon suivante :



L'iode 128 formé est radioactif et se désintègre avec une période de 25 minutes en émettant des particules β et des photons γ



Lors de l'irradiation, la concentration du radioélément augmente jusqu'à ce que son taux de formation égale son taux de désintégration. Le taux de formation est proportionnel au produit $f \sigma N$ dans lequel :

f = flux de neutrons (n/cm²/s)

σ = section efficace d'activation (cm²)

N = nombre de noyaux soumis à l'irradiation.

Le taux de désintégration est égale à λN^*

avec λ = constante radioactive

N^* = nombre de noyaux radioactifs présents

Le taux de croissance total est alors :

$$\frac{dN^*}{dt} = f\sigma N^* - \lambda N^*$$

En intégrant cette équation par rapport au temps t d'irradiation

$$N^* = \frac{f\sigma N}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t})$$

A la fin de l'irradiation, la radioactivité A_t , exprimée en désintégrations par seconde des N^* atomes instables est λN^*

$$A_t = \lambda N^* = f\sigma N (1 - e^{-\lambda t})$$

Le terme entre parenthèses représente le taux de croissance de la radioactivité, il tend vers 1 lorsque le temps d'irradiation tend vers l'infini. Connaissant le nombre d'Avogadro, la masse atomique et la masse de l'élément soumis à l'irradiation ainsi que son abondance isotopique, l'équation devient :

$$A_t = \frac{0,602 \times P \times f \times \sigma \times \Phi}{M} (1 - e^{-0,693 \frac{t}{T}})$$

A_t = désintégrations par seconde

P = masse de l'élément

f = abondance isotopique

M = masse atomique

σ = section efficace d'activation exprimée en barns (1 barn = 10^{-24} cm²)

Φ = flux en n/cm²/s

t = temps d'irradiation

T = période du radioélément formé.

Dès la fin de l'irradiation, la radioactivité décroît avec la période du radioélément formé suivant la loi :

$$A_{t'} = A_t \cdot e^{-\lambda t'}$$

où $A_{t'}$ = radioactivité restant au bout du temps t'

t' = temps écoulé entre la fin de l'irradiation et le moment de la mesure.

Cette équation combinée à la précédente conduit à l'expression générale :

$$A_{t'} = \frac{0,602 \times P \times f \times \sigma \times \Phi}{M} (1 - e^{-0,693 \frac{t}{T}}) e^{-0,693 \frac{t'}{T}}$$

La mesure de $A_{t'}$ permet de mesurer P si tous les autres facteurs sont connus. Malheureusement, certains facteurs tels que la section efficace et le flux de neutrons ne sont pas toujours connus avec une grande précision. Ainsi, cette formule n'est pas utilisable pour le calcul exact de la concentration de l'élément soumis à l'analyse mais elle permet de prévoir à l'avance la sensibilité qui pourra être atteinte.

Par contre, si un étalon contenant une quantité pesée, exactement connue, de l'élément est irradié conjointement à l'échantillon, la radioactivité par unité de masse de l'élément ou radioactivité spécifique sera la même pour l'étalon et l'échantillon.

On peut écrire :

$$\frac{A_{t'} (\text{étalon})}{P (\text{étalon})} = \frac{A_{t'} (\text{échantillon})}{P (\text{échantillon})}$$

$A_{t'} (\text{étalon})$, $A_{t'} (\text{échantillon})$ étant mesurées, $P (\text{étalon})$ étant connu, on peut en déduire la valeur de $P (\text{échantillon})$.

B - TRAITEMENT CHIMIQUE -

Au cours de l'irradiation, tous les éléments présents dans l'échantillon sont devenus radioactifs, si bien qu'un traitement chimique est rendu nécessaire afin d'isoler le corps que l'on veut mesurer.

Le traitement chimique devra être rapide car les éléments radioactifs formés sont généralement de courte période.

Les pertes qui pourraient être occasionnées par la rapidité de la manipulation peuvent être mesurées avec précision par la méthode de dilution isotopique : dès le début du traitement chimique, on ajoute à l'échantillon une quantité connue d'un autre isotope, stable ou radioactif, de l'élément à doser. La mesure de ce qui en reste après les manipulations permet de connaître les pertes et d'en tenir compte dans le calcul de la concentration initiale.

Le traitement chimique qui est la règle générale peut cependant être évité dans certains cas particuliers. Nous étudierons celui du dosage de l'iode dans le tissu thyroïdien par spectrométrie γ . Les concentrations respectives de l'iode et des autres éléments sont telles qu'il est possible de différencier, grâce à la spécificité de leur spectre gamma (spectres de raies), la radioactivité revenant à chacun d'eux.

C - MESURE DE LA RADIOACTIVITE DE L'ECHANTILLON -

La mesure de la radioactivité consiste essentiellement à déterminer le nombre de noyaux radioactifs qui se désintègrent par unité de temps. Une des voies principales de cette formation est l'émission par le noyau d'un électron (β^-). Cette émission est généralement associée à un réarrangement de la structure nucléaire conduisant à la présence d'un rayonnement électromagnétique ou γ dont l'énergie est une caractéristique de l'élément en cause.

Pour déterminer le taux de désintégration, il sera possible de mesurer soit le nombre de particules β^- soit le nombre de photons émis pendant un temps déterminé.

Le comptage β^- à l'aide d'un compteur Geiger Muller est certainement la méthode de mesure la plus simple et la plus sensible pour des émetteurs β^- énergiques. Il nécessite cependant une préparation de l'échantillon, généralement sous forme solide, d'épaisseur bien déterminée, assurant des conditions géométriques de comptage reproductibles. L'inconvénient principal de la mesure est qu'elle se prête mal à l'identification de l'élément. La détermination de l'énergie maxima est possible ; mais souvent, des produits susceptibles de contaminer la source peuvent également émettre des particules β^- d'énergie voisine.

La mesure du rayonnement γ , si elle est souvent moins sensible, le nombre de photons émis par le radioélément peut être plus faible que le nombre de désintégrations, se prête par contre à une étude spectrométrique grâce à l'adjonction d'un sélecteur d'amplitude à un détecteur à scintillation. En effet, l'une des propriétés intéressantes de ces appareils réside dans le fait qu'ils permettent non seulement le dosage en intensité du rayonnement mais qu'ils donnent la répartition en amplitude des impulsions produites par le photon γ dans le détecteur à scintillation. Celui-ci étant proportionnel, à la répartition en amplitude peut être substituée une répartition en énergie. On peut obtenir ainsi un spectre γ de telle sorte qu'apparaissent, sur la courbe enregistrée, les pics caractéristiques des radiations émises par un radioélément donné.

2 - DOSAGE DE L'IODE PROPREMENT DIT -

A - CONSIDERATIONS GENERALES -

Le tableau I établi à partir des références [29] [30] [31] réunit les principales caractéristiques de l'iode et de son isotope ^{128}I . Ce tableau montre qu'il est possible d'envisager la conduite du dosage de différentes manières.

La période courte de l'iode 128 va rendre impossible les mesures si le laboratoire ne se trouve pas à proximité du réacteur. D'autre part, si un traitement chimique de l'échantillon doit avoir lieu, on peut se demander si l'on n'a pas intérêt à le faire avant l'irradiation afin d'effectuer la mesure de la radioactivité le plus tôt possible après la fin de celle-ci.

Tableau I

$ \begin{array}{c} {}^{127}_{53}\text{I} \\ \downarrow (n, \gamma) \\ {}^{128}_{53}\text{I} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \text{Abondance isotopique} = 100 \text{ p. 100} \\ \text{Section efficace} = 5,6 \pm 0,3 \text{ barn} \end{array} \right. $						
Période en mn	Mode de désintégration	Energie en MeV des particules β^-	Energie en MeV des photons Pourcentage de désintégration			
25	β^- 94 %	E β^- max $\left\{ \begin{array}{l} 2,02 \\ 1,91 \end{array} \right.$	0,45	0,54	0,99	0,75
	capture K 6 %		17 p. 100	2 p. 100	0,5 p. 100	0,5 p. 100

En principe, le fait que ce traitement chimique soit effectué avant ou après l'irradiation n'a pas d'importance puisque les propriétés chimiques des isotopes radioactifs ou naturels sont identiques.

Si le traitement est fait avant l'irradiation, la mesure de la radioactivité pourra être faite par spectrométrie de scintillation car la préparation de l'échantillon est plus simple, donc plus rapide, et la possibilité de ne mesurer que les photons d'énergies caractéristiques de l'iode 128 permettra une plus grande spécificité du dosage. Cependant, l'émission γ de l'iode 128 est limitée à une raie photoélectrique à 450 keV qui ne correspond qu'à 17 p. 100 des désintégrations.

Finalement le temps gagné conduisant à une sensibilité plus grande mais aussi à un risque de contamination de l'échantillon par les réactifs est contrebalancé par la perte dans l'efficacité de la mesure du rayonnement.

Par contre, 94 p. 100 des désintégrations se font par émission de particules β^- d'énergie élevée. Le rendement de comptage avec un compteur Geiger Muller sera très bon. La mesure de la radioactivité ne permettant généralement pas de différencier un mélange de plusieurs radioéléments, il sera préférable de pratiquer un traitement chimique très complet après l'irradiation.

Que l'on choisisse l'une ou l'autre méthode, il est possible de mesurer avec une grande précision les pertes occasionnées par le traitement chimique en introduisant dès le début du dosage une quantité connue d'iode 131 sans entraîneur dans tous les échantillons et les étalons. La mesure de la quantité d'iode 131 restant à la fin du traitement comparée à la mesure faite au début permet de calculer le rendement des opérations chimiques à condition que l'iode 131 se trouve sous la même forme chimique que l'iode 127 à mesurer.

B - PREMIERE METHODE -

Elle consiste à pratiquer successivement le traitement chimique, l'irradiation et la mesure de la radioactivité.

I/ Traitement chimique.

a) la prise d'essai est de l'ordre de 1 à 2 g de sang ou de plasma.

b) Minéralisation.

Il n'est pas possible d'utiliser la méthode de minéralisation alcaline par voie sèche de Barker car la grande quantité de carbonate de sodium qu'elle met en jeu entraînerait une radioactivité parasite énorme rendant la mesure de la radioactivité de l'iode impossible.

Nous avons donc effectué la minéralisation acide par voie humide telle qu'elle est décrite par Lachiver et Leloup [13]. Dans un ballon de 250 cm³ sont introduits, après la prise d'essai, une petite quantité exactement connue d'une solution d'iode 131 sans entraîneur, 10 cm³ de H₂SO₄ 20 N et 2,5 cm³ d'anhydride chromique 10 M. La minéralisation est conduite à l'ébullition pendant environ 5 minutes jusqu'à ce que les fumées blanches se dégagent abondamment.

c) Distillation.

Après refroidissement et addition de 30 cm³ d'eau bidistillée, le ballon est adapté à l'appareil à distiller (figure 1) décrit par Lachiver et Leloup. La solution est soumise à l'ébullition et 5 cm³ d'acide phosphoreux à 50 p. 100 sont introduits afin de réduire l'acide iodique formé pendant le premier stade du traitement. L'iode entraîné est piégé par 3 cm³ de soude 0,2 N et la distillation est conduite pendant 6 minutes.

Après refroidissement, le distillat, dont le volume est de 15 à 20 cm³, est concentré par évaporation à chaud jusqu'au volume d'environ 1 cm³. Cette solution concentrée est transférée quantitativement dans une petite ampoule en polythène de 2 cm³ environ que l'on scelle à chaud.

Un blanc de réactif est pratiqué dans les mêmes conditions en remplaçant l'échantillon de sérum par le même volume d'eau bidistillée.

Un étalon constitué par 0,1 à 0,8 µg d'iode sous forme d'iodure d'ammonium dans un volume de 2 cm³ d'eau bidistillée auquel on a ajouté la même quantité d'iode 131 que dans l'échantillon et le blanc de réactif est également conditionné dans une ampoule de polythène comme précédemment.

d) Irradiation.

Les trois ampoules correspondant à l'échantillon, au blanc et à l'étalon sont disposées dans un tube en polystyrène bouché aux deux extrémités qui sera lui-même enfermé dans une cartouche en nylon (figure 2) qui est envoyée dans le système de canaux pneumatiques du réacteur EL3 à Saclay.

La durée de l'irradiation est de 30 minutes dans un flux de neutrons de 6.10^{12} n / cm² / s. D'après le premier terme entre parenthèses de l'équation établie plus haut le temps d'irradiation correspond à environ 50 p. 100 de l'activité maximum qu'il est possible d'obtenir. Dans ces conditions, la radioactivité due à l'iode est tout à fait satisfaisante et les autres éléments éventuellement présents (particulièrement le sodium) de période beaucoup plus longue verront leur production minimisées au maximum.

e) Extraction au tétrachlorure de carbone.

Cette extraction a pour but de séparer le plus rapidement possible l'iode du sodium introduit sous forme de soude lors de la distillation et qui empêcherait de faire une mesure précise de la radioactivité.

Elle est pratiquée le plus rapidement possible après la fin de l'irradiation. Le contenu de l'ampoule en polythène est vidé dans une ampoule à décanter. Après rinçage, on ajoute 20 mg d'iode sous forme d'une solution d'iodure de sodium qui va servir d'entraîneur et faciliter l'extraction de l'iode radioactif par le solvant ; puis 1 cm³ de HNO₃ 5N quelques gouttes d'une solution de nitrite de sodium à 1 p. 100, et 5 cm³ de tétrachlorure de carbone. Après agitation, la phase inférieure est séparée dans une deuxième ampoule à décanter. Trois extractions successives sont pratiquées avec 3 fois 5 cm³ de tétrachlorure de carbone. Les différents extraits réunis dans l'ampoule sont traités par 5 cm³ de soude à 5 p. 100 puis l'iode est extrait à nouveau dans la phase aqueuse, le tétrachlorure de carbone est rejeté et quelques cm³ de HNO₃ 5 N libèrent à nouveau l'iode qui est réextrait par trois fois 3 cm³ de CCl₄. L'extrait final de 9 cm³ sera mesuré avec exactitude et sera identique pour les échantillons et les étalons afin d'assurer une géométrie du comptage identique.

f) Mesure de la radioactivité.

La rapidité avec laquelle elle est pratiquée après la fin de l'irradiation conditionne en partie la sensibilité de la méthode.

Nous avons pratiqué la mesure de la radioactivité par spectrométrie γ car elle permet de distinguer sans difficultés les radioactivités dues à l'iode 128 de celles dues éventuellement au sodium 24 provenant des traces de sodium entraîné par le tétrachlorure de carbone.

D'autre part, étant donné la courte période de l'iode 128, il est nécessaire de mesurer simultanément les différentes parties de son spectre. Nous avons utilisé à cette fin un spectromètre à 100 canaux à mémoire magnétique du type RIDL, étalonné de telle sorte qu'il permet de couvrir une bande d'énergie comprise entre 0 et 750 keV. Le détecteur est constitué par un photomultiplicateur associé à un cristal d'iodure de sodium activé au thallium de 1,5 in. de diamètre et 1 in. de hauteur. Le détecteur est disposé dans un château de plomb de 5 cm d'épaisseur.



Figure 1 - Ensemble de minéralisation et distillation.



Figure 2 - Réipients utilisés pour l'irradiation.

La mesure relative de la radioactivité d'un échantillon par rapport à celle d'un étalon pourra être effectuée, soit par la détermination du rapport des surfaces des pics photoélectriques, soit par celle du rapport de leur amplitude. En principe, la première méthode est plus logique, parce que la surface est proportionnelle à un nombre d'impulsions beaucoup plus élevé que l'amplitude ce qui rend la précision statistique meilleure ; cependant, il est préférable d'utiliser la deuxième méthode pour les raisons suivantes :

- La durée de chaque comptage étant relativement courte (15 à 30 minutes), la stabilité des dispositifs électroniques est suffisante pour qu'au cours des mesures il n'y ait pas de déplacement appréciable du pic photoélectrique susceptible d'entraîner une erreur de mesure par comparaison des amplitudes.

- En présence d'un pic à 364 keV non négligeable de l'iode 131 ajouté pour la mesure du rendement, il est difficile de déterminer avec précision la surface occupée par le pic photoélectrique à 450 keV, car la résolution des dispositifs de comptage par spectrométrie n'est jamais parfaite. Il est plus simple de tracer, par approximation graphique, à partir de la portion du spectre correspondant aux énergies supérieures à 550 keV, une ligne de base permettant de déterminer avec une précision acceptable l'amplitude des pics photoélectriques.

Compte tenu des précisions qui viennent d'être données, le mode opératoire est le suivant :

L'extrait final de 9 cm³ obtenu suivant la technique précédemment décrite est disposé dans une petite fiole cylindrique en verre de 3,5 cm de diamètre intérieur, laquelle est directement posée par sa base sur le capot d'aluminium du cristal d'iodure de sodium détecteur. Les spectres sont en général enregistrés avec une amplitude maxima correspondant à 2047 impulsions par canal. Le mouvement propre par canal est à peu près constant et de l'ordre de 2,2 impulsions par minute dans le domaine des énergies des pics à 364 keV de ¹³¹I et 450 keV de ¹²⁸I.

Dans le cas où le dosage comporte les mesures sur l'échantillon, l'étalon et un blanc, 7 spectres sont réalisés, représentés par les figures 3 à 9 sur lesquelles l'expression "extraction du réacteur" correspond au temps écoulé entre la fin de l'irradiation et le moment où est commencée la mesure de la radioactivité.

1/ Tout d'abord un spectre du standard ¹³¹I qui est ajouté à l'échantillon à l'étalon et au blanc avant les opérations (figure 3).

Puis après toutes les opérations, dans l'ordre chronologiques :

2/ Un spectre du mélange ¹²⁸I- ¹³¹I du blanc (figure 4)

3/ Un spectre du mélange ¹²⁸I- ¹³¹I de l'échantillon (figure 5)

4/ Un spectre du mélange ¹²⁸I- ¹³¹I de l'étalon (figure 6)

5/ Un spectre de ¹³¹I du blanc après désintégration complète de ¹²⁸I (figure 7)

6/ Un spectre de ¹³¹I de l'échantillon après désintégration complète de ¹²⁸I (figure 8)

7/ Un spectre de ¹³¹I de l'étalon après désintégration complète de ¹²⁸I (figure 9).

Les figures 3 à 9 correspondent au cas de l'iode sanguin total chez un sujet normal. Le tableau II donne les amplitudes des pics des figures exprimées en nombre d'impulsions du canal central. (tableau II).

Si l'on désigne par A, B, B', B'', C, C', C'', les taux de désintégration correspondants ramenés à une même origine des temps, en tenant compte du mouvement propre, et par m la masse d'iode de l'étalon en µg, la masse M d'iode de l'échantillon est donnée par :

$$X = \frac{B'A}{C'} (1)$$

$$M = m \frac{X - Y}{Z} (2) \quad \text{avec} \quad Y = \frac{BA}{C} (1)$$

$$Z = \frac{B''A}{C''} (1)$$

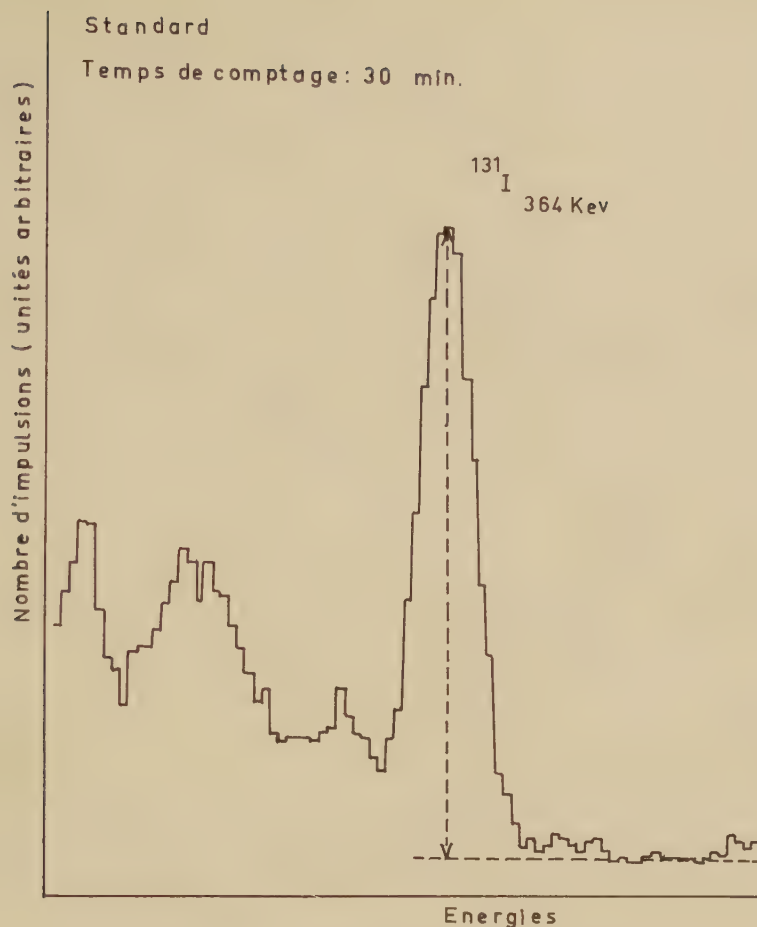


Figure 3 - Spectre de l'iode 131 standard.

Tableau II

Figure	Amplitude du photopic en nombre d'impulsions	Mouvement propre en nombre d'impulsions	temps écoulé de la sortie du réacteur au comptage	temps de comptage	radioélément
3	A = 1 632	66	-	30'	^{131}I
4	B = 1 388	33	18'	15'	^{128}I
5	B' = 1 800	33	36'	15'	^{128}I
6	B'' = 1 980	33	60'	15'	^{128}I
7	C = 1 218	66	240'	30'	^{131}I
8	C' = 1 526	66	300'	30'	^{131}I
9	C'' = 1 150	66	360'	30'	^{131}I

D'après les relations (1) X, Y, Z, représentent, avec le même coefficient de proportionnalité, des radioactivités proportionnelles respectivement à : la quantité d'iode contenue dans l'échantillon plus celle des réactifs utilisés ; la quantité d'iode contenue dans le blanc des réactifs, et la quantité d'iode contenue dans l'étalon. La relation (2) en résulte directement. Notons qu'en pratique il est inutile de mesurer séparément, le rendement de chaque opération. On peut donc se dispenser de mesurer le terme A relatif au standard de ^{131}I , puisque ce terme s'élimine dans le rapport $\frac{X - Y}{Z}$

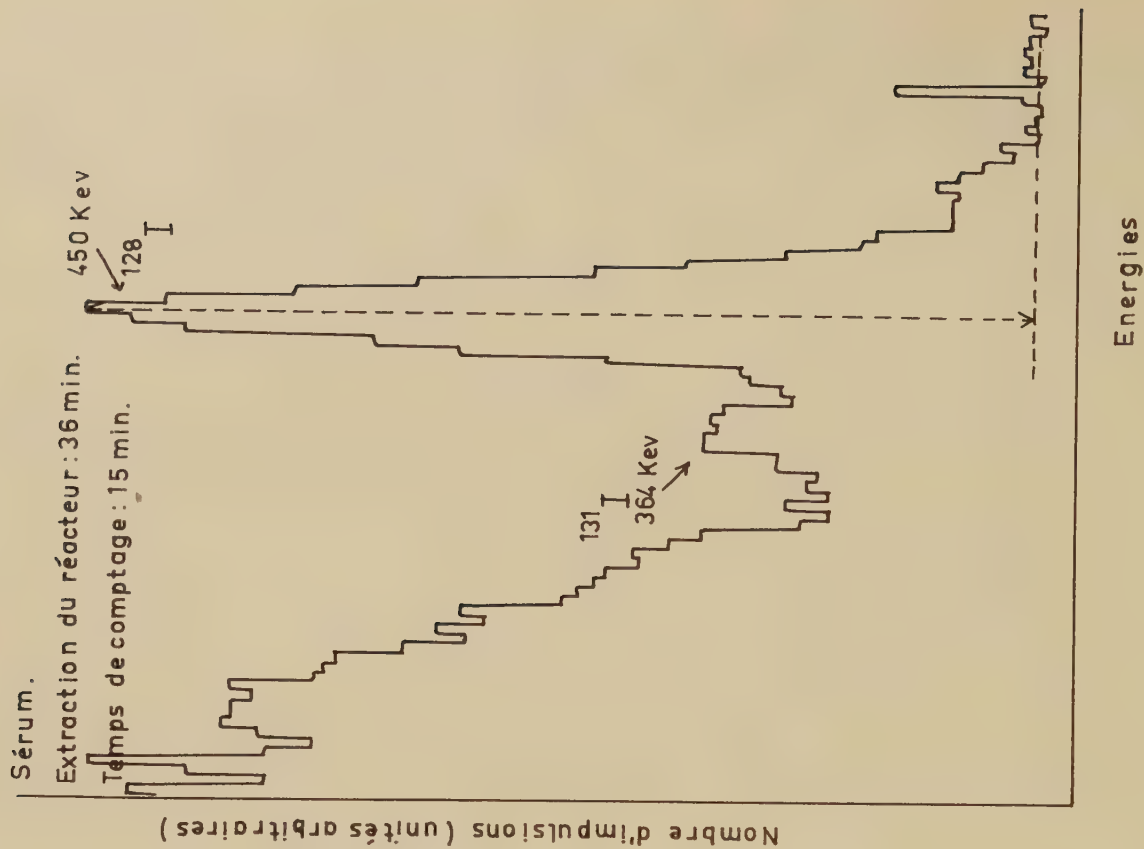


Figure 5 - Spectre du mélange ¹²⁸I - ¹³¹I de l'échantillon.

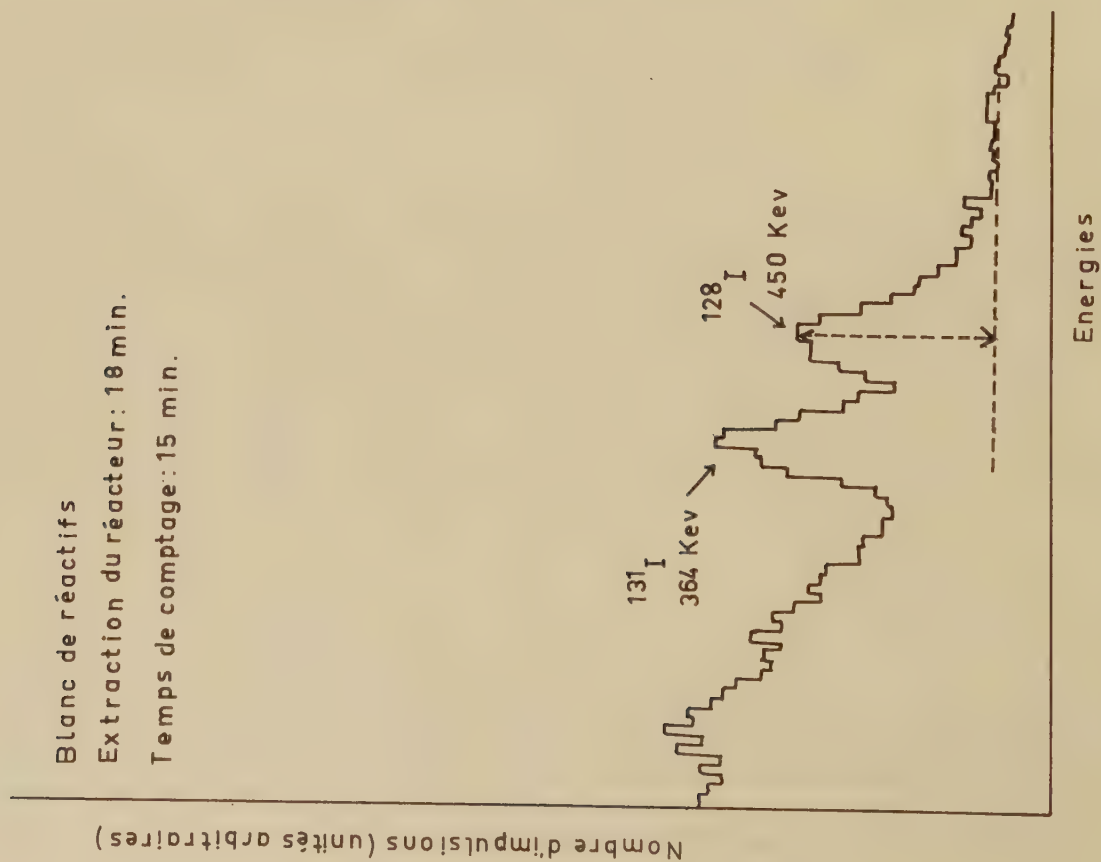


Figure 4 - Spectre du mélange ¹²⁸I - ¹³¹I du blanc.

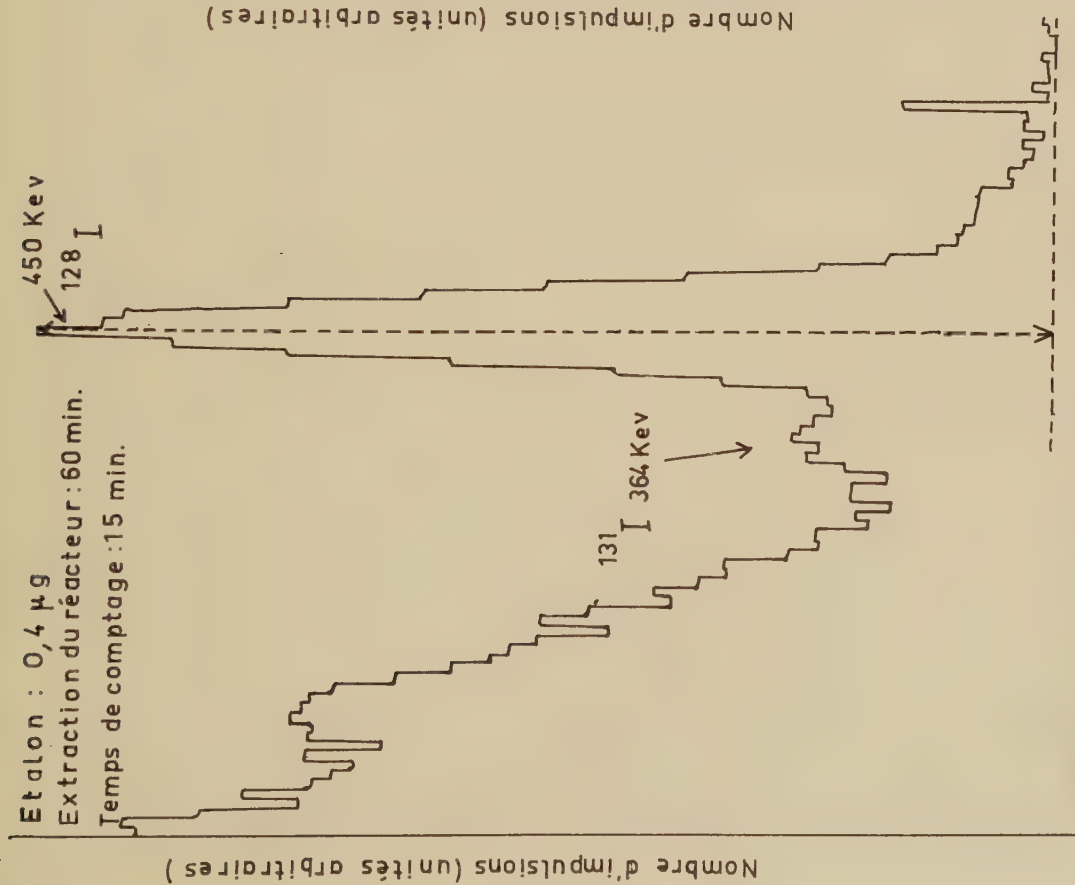


Figure 6 - Spectre du mélange ^{128}I - ^{131}I de l'étalon.

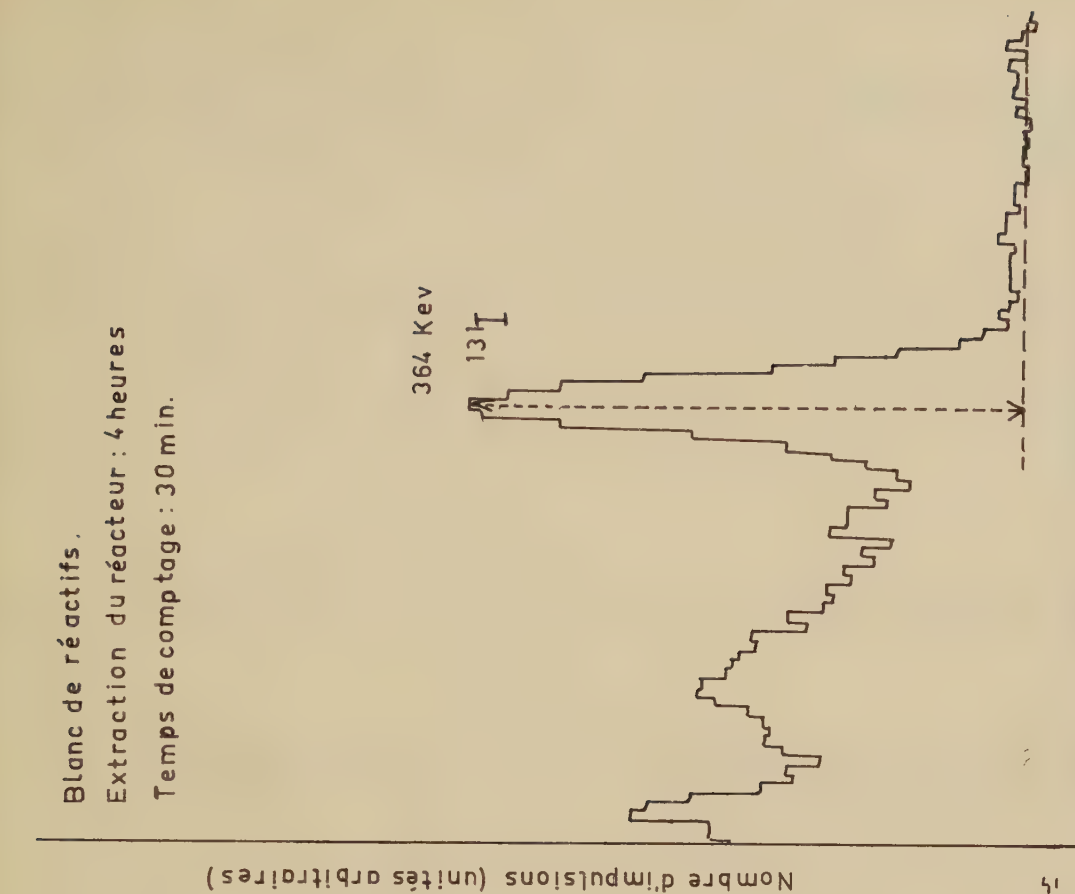


Figure 7 - Spectre de l'iode ^{131}I du blanc après désintégration complète de l'iode ^{128}I . Mesure du rendement

Sérum.

Extraction du réacteur : 5 heures

Temps de comptage : 30 min.

Nombre d'impulsions (unités arbitraires)

364 Kev

131 I

Energies

Etalon.

Extraction du réacteur : 6 heures

Temps de comptage : 30 min.

Nombre d'impulsions (unités arbitraires)

364 Kev

131 I

Energies

Figure 8 - Spectre de l'iode 131 de l'échantillon après désintégration complète de l'iode 128. Mesure du rendement.

Figure 9 - Spectre de l'iode 131 de l'étalon après désintégration complète de l'iode 128. Mesure du rendement.

2/ Précision de la mesure.

Pour déterminer la précision, on emploie la relation classique (3) qui donne l'erreur quadratique moyenne ε_f sur une fonction $f(x, y, \dots)$ connaissant les erreurs quadratiques moyennes sur les variables $\varepsilon_x, \varepsilon_y, \dots$

$$\varepsilon_f = \sqrt{\left(\varepsilon_x \frac{\delta_f}{\delta_x}\right)^2 + \left(\varepsilon_y \frac{\delta_f}{\delta_y}\right)^2 + \dots} \quad (3)$$

En appliquant la relation (3) aux relations (1) on obtient les erreurs quadratiques moyennes $\varepsilon_x, \varepsilon_y, \varepsilon_z$, à partir des écarts standards sur les valeurs $a, b, c, \dots$ données par la distribution de Poisson pour l'iode 131 et par la distribution binomiale pour l'iode 128.

On applique ensuite la relation (3) à l'expression (2), ce qui donne l'erreur quadratique sur M , et par suite sur le résultat du dosage. Dans l'exemple précédent, on trouve un écart standard de $0,0035 \mu\text{g}$ représentant 6 p. 100 de $0,059 \mu\text{g}$, résultat du dosage.

C - DEUXIEME METHODE -

Elle consiste essentiellement à irradier l'échantillon dès son prélèvement, à pratiquer ensuite le traitement chimique le plus rapidement possible et à faire la mesure de la radioactivité par comptage β à l'aide d'un compteur Geiger-Muller.

1/ Irradiation.

L'échantillon biologique, de quelque nature qu'il soit, dont la prise d'essai ne pourra dépasser la capacité des récipients standards utilisés pour l'irradiation, est conditionné dès son prélèvement de la façon indiquée pour la première méthode (figure 2).

Généralement la prise d'essai est telle que sa concentration en iode varie de 10^{-9} à 10^{-7} g ce qui correspond dans la plupart des cas à $0,5$ à 3 g d'échantillon. La nature de l'échantillon peut constituer un facteur limitant le poids de la prise d'essai. En particulier, lorsque l'échantillon contient un élément très activable et dont la radioactivité induite à la fin de l'irradiation pourrait constituer un danger pour le manipulateur.

Un étalon est préparé simultanément ; il est constitué par une solution à $0,1 \mu\text{g}$ d'iode par cm^3 obtenue par dissolution d'iodure d'ammonium dans une solution de soude à 0,5 p.100. A 1 cm^3 de cette solution, on ajoute 1 cm^3 d'une solution étalon d'iode 131 sans entraîneur qui servira à la mesure des pertes au cours de la manipulation.

Les échantillons, à concurrence de 6, et l'étalon, sont irradiés ensemble dans les mêmes conditions que celles évoquées plus haut (une demi-heure dans un flux de $6,10^{12} \text{ n/cm}^2/\text{s}$).

2/ Traitement chimique.

Le traitement chimique est pratiqué dès la fin de l'irradiation suivant le mode opératoire décrit précédemment, cependant quelques modifications sont apportées suivant les échantillons à traiter pour augmenter au maximum le rendement.

a) minéralisation des échantillons.

Les échantillons quelquefois solides (précipités trichloracétiques de protéines, aliments, sels ...) doivent être vidés quantitativement des récipients dans lesquels ils ont été irradiés si bien que les rinçages avec de l'eau distillée sont nombreux et augmentent le volume d'une façon importante. Afin de hâter la minéralisation qui ne commence que lorsque toute l'eau du milieu est évaporée, il est intéressant d'utiliser de l'oleum à la place d'acide sulfurique concentré.

D'autre part, avant la minéralisation on ajoute dans le ballon de Chaney la même quantité d'iode 131 que celle ajoutée à l'étalon avant irradiation ainsi que $10 \mu\text{g}$ d'iode 127 qui, comme l'ont montré Taurogg et Chaikoff [11] et comme nous l'avons constaté nous même, augmentent le rendement de la distillation. Enfin, les quantités d'acide sulfurique et d'acide chromique utilisées sont très variables suivant la richesse du milieu en matières organiques : ainsi, lorsque l'on minéralise 1 g de farine alimentaire ou 2 à 3 g de résine échangeuse d'ions, il est nécessaire pour conduire correctement la minéralisation d'utiliser environ 40 cm^3 de H_2SO_4 concentré et 20 cm^3 de CrO_3 à 50 p. 100.

b) distillation.

Dès la fin de la minéralisation, sans attendre le refroidissement du milieu, le ballon est branché sur l'appareil à distiller et 30 cm d'eau sont rajoutés par l'ampoule latérale, le bulbe de l'appareil à distiller ayant été préalablement rempli avec 5 cm³ de NaOH à 10 p.100. Le liquide du ballon est chauffé sur un bec Bunsen et lorsqu'il entre en ébullition, on introduit 3 à 10 cm³ d'acide phosphoreux à 50 p.100 selon la quantité d'acide chromique utilisée. La distillation est maintenue pendant 6 minutes.

c) extraction par le tétrachlorure de carbone.

La minéralisation et la distillation ainsi pratiquées conduisent en principe à la séparation totale de l'iode, cependant il est préférable d'opérer une séparation supplémentaire pour éliminer les impuretés éventuelles entraînées pendant la distillation. On pratique l'extraction comme il a été exposé au cours de la 1ère méthode. Toutefois, l'extract dans le tétrachlorure de carbone est repris par 5 ml d'une solution à 3 p.100 de métabisulfite de sodium pour transformer tout l'iode en iodure et l'opération est conduite une seule fois au lieu de trois.

d) Préparation de l'échantillon en vue de la mesure de la radioactivité β .

Cette préparation est essentielle étant donné la nature particulière du rayonnement β . La solution d'iodure de sodium dans le métabisulfite est versée dans un filtre de Buchner (figure 10) monté avec un filtre en papier de 20 mm de diamètre et au fond duquel on a versé quelques centimètres cubes de tétrachlorure de carbone pour éviter la fuite d'iodure durant les opérations suivantes.



Figure 10 - Filtre utilisé pour la précipitation et la filtration de l'iodure d'argent.

On ajoute alors 5 cm³ de HNO₃ concentré et 3 cm³ de AgNO₃ à 4 p. 100. L'iodure d'argent précipite, alors que le sulfate d'argent, soluble en milieu nitrique, est filtré sous vide. Le précipité est ensuite lavé à l'eau, à l'ammoniaque concentré, à nouveau à l'eau puis le filtre de papier supportant le précipité est déposé dans une capsule d'aluminium et séché sous une lampe à infra-rouge. L'échantillon est alors prêt pour le comptage.

La solution étalon étant constituée d'une solution d'iodure d'ammonium contenant un peu de soude ne subit qu'un traitement relativement simple destiné à séparer l'iode du sodium. Cet étalon est traité comme l'échantillon après la distillation.

e) mesure de la radioactivité.

Cette méthode de mesure, si elle est moins sûre que la méthode par spectrométrie γ , si elle est pratiquée sans précautions spéciales, est beaucoup plus sensible et permet le dosage simultané de plusieurs échantillons car le nombre d'impulsions enregistrées pour un même échantillon et un même temps de comptage est beaucoup plus élevé.

Appareillage.

Il est constitué par un compteur cloche Geiger Muller classique, dont la fenêtre a une épaisseur de 2 mg/cm², associé à un porte-échantillon en plexiglass, le tout étant enfermé dans un châssis de plomb de 5 cm d'épaisseur. Le dispositif électronique se compose d'une haute tension stabilisée et d'une échelle de 1 000 également classiques.

Mode opératoire.

Une série de mesures consécutives de la radioactivité β du précipité d'iodure d'argent préparé suivant la technique indiquée ci-dessus, est effectuée après filtration par 150 mg par cm² d'aluminium pour éliminer la majeure partie des rayons β de ¹³¹I (90 p. 100) surajouté pour la mesure du rendement. Ceci n'entraîne qu'une faible diminution du rendement de comptage β de ¹²⁸I (15 p. 100) puisque l'énergie maxima, égale à 2,02 MeV, des particules β émises par ce dernier est très supérieure à celle des particules β émises par ¹³¹I (0,608 MeV). On vérifie ainsi que la décroissance correspond à la période de 25 minutes de ¹²⁸I, comme le montre la figure 11.

On opère de la même façon sur l'étalon que sur l'échantillon.

Un point important doit être signalé ici concernant la mesure de la radioactivité de ¹³¹I, après décroissance complète de ¹²⁸I, pour l'appréciation du rendement tant pour l'étalon que pour l'échantillon. Par suite de la courte période de ¹²⁸I, le précipité d'iodure d'argent est effectué assez rapidement et dans des conditions telles que la valeur de son épaisseur et l'uniformité de cette dernière sont assez variables. Ceci n'entraîne qu'une erreur négligeable pour la mesure de ¹²⁸I par suite de sa grande énergie β . Il n'en est pas du tout de même pour la mesure de ¹³¹I. Il s'en suit qu'en pratique, il est nécessaire de mesurer la radioactivité de ¹³¹I par spectrométrie γ en appréciant la surface ou l'amplitude de son pic photoélectrique à 364 keV.

Les considérations développées au chapitre relatif à la mesure de la radioactivité par spectrométrie γ , dans le cas de la première méthode, sont toujours valables et la quantité d'iode contenue dans l'échantillon est toujours donnée par la relation (2) qui se simplifie ici, car comme il n'y a pas de blanc à mesurer, le terme Z disparaît.

3/ Calcul de la concentration en iode des échantillons.

a) Mesure de la radioactivité des échantillons due à ¹²⁸I à un instant donné.

La méthode la plus simple consisterait à pratiquer la mesure de la radioactivité le plus tôt possible pendant un temps suffisamment long pour avoir une très bonne précision statistique, à supprimer le bruit de fond correspondant pour le même temps de comptage (le bruit de fond étant constitué pour une part par le mouvement propre de l'appareil et pour une autre part par la petite quantité d'iode 131 ajoutée pour la mesure du rendement et dont la radioactivité devient d'autant moins négligeable que le taux d'iode 127 à mesurer est faible) et à transformer ce nombre en impulsions par minute à un instant donné. Dans le cas de comptage dont la durée n'est pas négligeable par rapport à la période de l'iode 128 un autre facteur de correction est indispensable.

On obtient finalement :

$$A = \frac{(x_{t_1} - y_{t_1}) e^{-\lambda t_1}}{\frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t_1})}$$

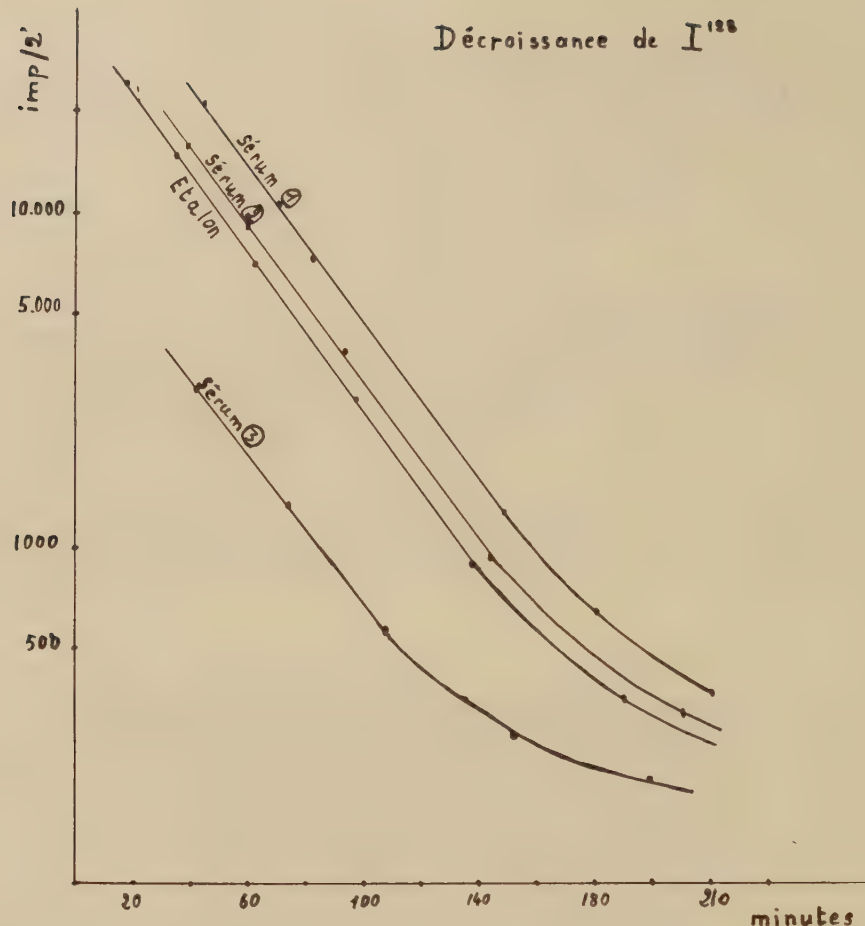


Figure 11 - Courbes de décroissance de la radioactivité d'une série d'échantillons et d'un étalon.

A = activité en impulsions/minute au temps t_0

x_{t_1} = nombre d'impulsions de l'échantillon enregistrées pendant le temps t_1

y_{t_1} = nombre d'impulsions enregistrées correspondant au mouvement propre pendant le temps t_1

λ = constante radioactive de l'iode 128

t' = temps écoulé entre t_0 et le début du comptage

t_1 = temps de comptage

Dans le cas plus général où plusieurs échantillons sont à mesurer, il peut être difficile d'envisager de faire des comptages longs sur chaque échantillon l'un après l'autre. En effet, le dernier échantillon risque de n'être plus que très faiblement radioactif et d'être mesuré avec une très mauvaise précision. Il est alors préférable de pratiquer plusieurs mesures de courte durée sur chaque échantillon, chacun ayant été compté au moins une fois avec une bonne précision statistique.

La mesure de la radioactivité sera donc calculée à partir de la moyenne de ces mesures et la formule précédente devient alors :

$$A = \frac{A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n}{n}$$

avec

$$A_1 = \frac{(x_{t_1} - y_{t_1}) (e^{-\lambda t'_1})}{\frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t'_1})}$$

$$A_2 = \frac{(x_{t_2} - y_{t_2}) (e^{-\lambda t'_2})}{\frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t'_2})}$$

etc

Cette méthode de calcul présente un triple avantage :

- comme nous venons de le voir, elle permet de mesurer plusieurs échantillons à la fois.
- elle permet de vérifier si l'échantillon soumis au comptage est de l'iode 128 pur. En effet, les facteurs A_1 , A_2 , A_n doivent être identiques à la précision statistique près.
- elle se prête facilement à une mesure graphique. Les courbes de la figure 11 représentent les décroissances d'une série de dosages et montrent que si le nombre de mesures est suffisamment grand il est possible d'extrapoler avec une très bonne précision les droites ayant une période de 25 minutes jusqu'à une valeur de l'ordonnée suffisamment grande pour qu'il ne soit plus nécessaire de soustraire le mouvement propre. L'intersection d'une verticale avec les différentes droites ainsi extrapolées donne directement une valeur de la radioactivité comparable d'un échantillon à l'autre.

b) Mesure de la radioactivité de l'échantillon due à ^{131}I .

Cette mesure ne présente aucun problème particulier puisqu'il suffit d'attendre la décroissance de l'iode 128 pour la pratiquer.

Ainsi, par exemple, pour le sérum n° 2 relatif à la figure 11, on obtient les résultats suivants :

A' (activité en ^{128}I de l'échantillon mesurée au compteur Geiger)
= 9 500 impulsions en 2 minutes

A'' (activité en ^{128}I de l'étalon mesurée au compteur Geiger)
= 8 000 impulsions pour 2 minutes

B' (activité en ^{131}I de l'échantillon mesurée sur le canal central du pic photoélectrique à 364 keV)
= 12,2 impulsions par minute pour une mesure de une heure.

B'' (activité en ^{131}I de l'étalon mesurée sur le canal central du pic photoélectrique à 364 keV)
= 16 impulsions par minute pour une mesure de une heure.

m (quantité de ^{127}I dans l'étalon) = 0,1 μg

M = quantité de ^{127}I dans l'échantillon en μg

$$M = 0,1 \cdot \frac{9\,500}{8\,000} \cdot \frac{12,2}{16} = 0,091 \mu\text{g}$$

Comme la prise d'essai était de 2 cm^3 , la concentration en iode dans le sérum n° 2 (figure 11) est de 4,5 μg par 100 cm^3 .

4/ Précision de la mesure.

Les indications données aux chapitre relatif à la mesure par spectrométrie γ s'appliquent également ici, on doit toutefois remarquer qu'au taux où se trouve l'iode dans le sang total ou l'iode protéique dans le plasma, le nombre d'impulsions par minute enregistré dû à ^{128}I est beaucoup plus élevé que pour la mesure par spectrométrie γ . Le temps de comptage (2 minutes) devient négligeable par rapport à la période de ^{128}I et l'on peut utiliser la distribution de Poisson au lieu de la distribution binomiale pour l'appréciation des écarts standards.

Dans le cas de l'exemple précédent, on trouve un écart standard de 0,0026 représentant 6 p. 100 de 0,045 résultat du dosage dans 1 cm^3 de sang. On voit que la précision est apparemment la même que par spectrométrie γ , ce qui est à priori inattendu, puisque d'après ce qui vient d'être développé plus haut, la précision sur la mesure de ^{128}I devrait être beaucoup plus élevée par comp-

tage β que par spectrométrie γ . En fait la précision sur une fonction de plusieurs paramètres est du même ordre de grandeur que celle du paramètre dont la mesure est la moins précise. Or, pour les raisons que nous avons exposées plus haut, la mesure de ^{131}I servant à établir le rendement se fait par spectrométrie γ , il est donc normal de trouver une précision globale analogue à celle que donne cette méthode. Néanmoins on doit remarquer que dans le cas de la mesure par comptage β , cet ordre de grandeur de la précision restera fixe, même pour des taux d'iode très inférieurs à ceux du sang d'un sujet normal, alors que par spectrométrie γ la précision deviendra de plus en plus mauvaise quand le taux d'iode diminuera.

En définitive, comme nous le préciserons plus loin, la sensibilité de la mesure par comptage est très supérieure à celle de la méthode par spectrométrie.

D - RESULTATS ET DISCUSSION -

Après avoir exposé les résultats que nous avons obtenus par ces deux méthodes pour des échantillons de sang, nous discuterons la spécificité de la méthode, les facteurs pouvant influencer la précision puis enfin la sensibilité des différentes méthodes.

1/ Résultats.

Un échantillon de sérum sanguin constitué par un mélange de différents sérums nous a permis de faire un certain nombre de mesures de l'iodémie pour vérifier si l'on pouvait obtenir une précision du même ordre de grandeur que celle prévue par le calcul.

Les mesures ont été pratiquées simultanément par la première méthode décrite, c'est-à-dire la méthode spectrométrique comprenant le traitement chimique avant l'irradiation et par une méthode chimique classique : celle décrite par Lachiver et Leloup [13].

Le tableau III montre le résultat de 14 déterminations. Les deux premières colonnes correspondent au dosage par analyse d'activation selon que l'on mesure ou non le rendement des manipulations, les troisième et quatrième colonnes correspondent aux résultats obtenus avec le même sérum lorsqu'on a utilisé la réaction catalytique, également avec ou sans mesure du rendement.

Tableau III

Analyse par activation		Réaction catalytique	
avec mesure du rendement ($\mu\text{g}/100\text{ cm}^3$)	sans mesure du rendement ($\mu\text{g}/100\text{ cm}^3$)	avec mesure du rendement ($\mu\text{g}/100\text{ cm}^3$)	sans mesure du rendement ($\mu\text{g}/100\text{ cm}^3$)
4,40	3,75	4,85	3,72
4,40	4,00	4,90	3,95
4,55	4,25	5,20	4,00
4,60	4,40	5,25	4,10
4,65	4,50	5,50	4,40
4,75	4,85	5,55	4,75
4,80	5,20	6,20	4,80
5,05	5,20	6,25	5,10
5,05	5,40	6,55	5,55
5,05	6,00	6,75	5,75
5,10	6,20	6,75	5,75
5,10	6,40	6,75	5,90
5,30	6,50	7,25	5,90
5,30	7,20	7,80	6,25
Moyenne = 4,85 $\sigma = 0,29$ 4,85 $\pm$ 6 p. 100	Moyenne = 5,25 $\sigma = 1,05$ 5,25 $\pm$ 20 p. 100	Moyenne = 6,11 $\sigma = 0,89$ 6,11 $\pm$ 14,5 p. 100	Moyenne = 5 $\sigma = 0,83$ 5 $\pm$ 16,5 p. 100

Les résultats de la première colonne montrent que la précision obtenue lorsqu'on mesure le rendement est identique à celle calculée. La deuxième colonne montre bien que cette mesure du rendement est indispensable surtout lorsque les manipulations doivent être conduites rapidement comme le sont dans cette première méthode celles relatives à l'extraction par le tétrachlorure de carbone. Les chiffres de cette colonne montrent également que la moyenne trouvée est d'environ 20 p.100 supérieure à celle de la première colonne : l'explication de cette différence semble être la suivante : au moment où ces mesures ont été pratiquées, les étalons étaient constitués par une solution d'iodure d'ammonium extrêmement diluée : elle contenait 0,1 à 0,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; lors de l'irradiation nous avons constaté qu'une partie importante de cet iodure s'adsorbait sur les parois de polythène des tubes dans lesquels les échantillons étaient conditionnés, la concentration de l'étalon s'en trouvait ainsi diminuée et le résultat apparent de la mesure augmenté. Par contre, en augmentant la concentration de la solution étalon en sels minéraux, le phénomène d'adsorption ne se produit plus. Pour cette raison nous avons toujours ajouté par la suite une petite quantité de soude dans les étalons.

Les troisièmes et quatrièmes colonnes montrent que, dans nos mains, la méthode catalytique conduit à des résultats beaucoup moins précis puisque la précision est de l'ordre de 15 p. 100; toutefois, le fait que la précision soit la même selon que les calculs sont faits en tenant compte ou non du rendement laisse supposer que l'imprécision provient soit de la mesure colorimétrique, soit du fait que la minéralisation n'a pas été complète et qu'une partie de l'iode organique n'a pas participé à la réaction catalytique. Dans ce dernier cas, on peut penser que l'iode 131 ajouté sous forme d'iodure a été oxydé puis réduit et distillé en totalité, alors que l'iode protéique de l'échantillon n'a pas été entièrement oxydé au cours de la minéralisation si bien que la totalité n'ayant pas été distillée, la réaction colorée finale n'a porté que sur une fraction variable de l'iode de l'échantillon.

Enfin la différence entre les moyennes obtenues ne semble pas significative.

Une étude de la précision a également été faite sur les résultats obtenus avec la deuxième méthode (comptage β). 43 dosages sur un même mélange de sérum ont été échelonnés sur environ 3 mois, les résultats obtenus chronologiquement sont consignés dans le tableau IV.

Tableau IV
Dosage de l'iode 127 par compteur Geiger

^{127}I exprimé en $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$ de sérum							
n°		n°		n°		n°	
1	4,09	12	3,55	23	4,05	34	4,30
2	4,07	13	3,90	24	4,00	35	4,10
3	3,59	14	3,82	25	3,74	36	3,90
4	3,58	15	3,68	26	3,94	37	4,05
5	3,77	16	4,00	27	3,94	38	4,30
6	3,93	17	3,66	28	3,72	39	4,00
7	4,23	18	3,66	29	3,95	40	3,90
8	4,12	19	3,67	30	4,30	41	4,20
9	3,82	20	3,90	31	4,02	42	4,35
10	3,82	21	4,06	32	4,22	43	3,85
11	3,90	22	3,85	33	4,10		
Moyenne = 3,95 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$							
$\sigma = 0,22$							
3,95 $\mu\text{g} \pm 5,5 \text{ p. 100}$							

La précision obtenue de 5,5 p.100 est également en bon accord avec la théorie.

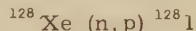
2/ Spécificité de la méthode par activation.

Il convient d'étudier d'une part les réactions nucléaires parasites pouvant interférer sur la spécificité du dosage et d'autre part les incidences d'une mauvaise séparation chimique.

a) réactions nucléaires parasites.

La source de neutrons utilisée étant un réacteur nucléaire à eau lourde, la plus grande partie des neutrons est ralentie à la vitesse d'agitation thermique des molécules, soit 2 200 m/s correspondant à une énergie de 0,025 électronvolt. Cependant, à côté de ces neutrons lents, il existe toujours une faible proportion de neutrons de fission dont les énergies peuvent atteindre plusieurs MeV. Ainsi ces neutrons "rapides" donnent naissance à des réactions nucléaires.

A notre connaissance, seul le xénon peut se transformer en iode 128 par la réaction suivante :



Cependant le taux très faible de neutrons rapides présents dans les neutrons lents utilisés (moins de 1 p.100), la section efficace également très faible de cette réaction et surtout la nature des échantillons analysés font que l'éventualité que cette réaction se produise est pratiquement nulle.

b) interférences dues à d'autres éléments entraînés au cours des opérations chimiques et présents dans l'échantillon au moment de la mesure.

Une telle éventualité, si elle se produit, dans le cas de la première méthode, n'a pas d'importance, car la mesure spectrométrique permet de distinguer les impuretés éventuelles. Seul un élément possédant un pic photoélectrique à une énergie très voisine de 450 keV pourrait être confondu avec ^{128}I , mais dans ce cas la mesure de la période du photopic permet de s'assurer de l'absence de radioactivité parasite.

Par contre, lorsqu'on utilise la deuxième méthode, une mauvaise séparation chimique peut conduire à des erreurs importantes, si les produits entraînés ont une période voisine de celle de ^{128}I , car dans ce cas, le seul critère de pureté pratiquement utilisé est la mesure de la période.

Les principaux corps présents dans les échantillons biologiques qui pourraient avoir éventuellement été entraînés lors de la distillation sont le chlore et le brome.

Le brome 78 avec sa période de 18 minutes pourrait être confondu avec l'iode, mais sa concentration très faible dans les échantillons de sang relativement à celle du chlore et la spécificité de la séparation chimique utilisée rendent peu probable la présence de cet élément dans les échantillons soumis au comptage.

Le chlore par contre, se trouvant à une concentration beaucoup plus élevée que le brome dans les échantillons biologiques et conduisant au ^{38}Cl de 37 minutes de période risquerait de contaminer l'iode extrait par distillation. Nous avons vérifié l'efficacité du traitement chimique en irradiant dans les conditions habituelles 2 cm³ d'une solution d'acide trichloracétique contenant 250 mg de chlore. Après application du traitement chimique décrit précédemment, le nombre d'impulsions enregistrées au compteur Geiger a été de 150 impulsions/2 minutes, 40 minutes après la fin de l'irradiation.

La courbe n° 1 de la figure 12 montre la décroissance obtenue à partir d'un tel échantillon. Après soustraction du mouvement propre du compteur, la période radioactive de l'échantillon a été trouvée de 28 minutes. Pour obtenir un tel résultat, le nombre d'impulsions revenant au chlore ne doit pas être supérieur à la moitié du nombre total d'impulsions, le reste de la radioactivité étant due à l'iode contaminant l'acide trichloracétique. Si l'on considère que dans les échantillons de sérum sanguin la quantité de chlore irradiée est de l'ordre de 1,5 à 7 mg selon le volume de la prise d'essai, le nombre d'impulsions revenant au chlore après le traitement chimique doit être au maximum de 2 impulsions/minute, ce qui est négligeable par rapport au nombre d'impulsions correspondant à l'iode 128.

3/ Précision des résultats.

Il convient de distinguer les facteurs physiques et les facteurs chimiques pouvant intervenir dans la précision des résultats.

a) facteurs physiques.

L'inhomogénéité du flux de neutrons dans lequel les échantillons sont irradiés peut conduire à des erreurs importantes : elle peut amener en effet une irradiation différente de l'échantillon et de

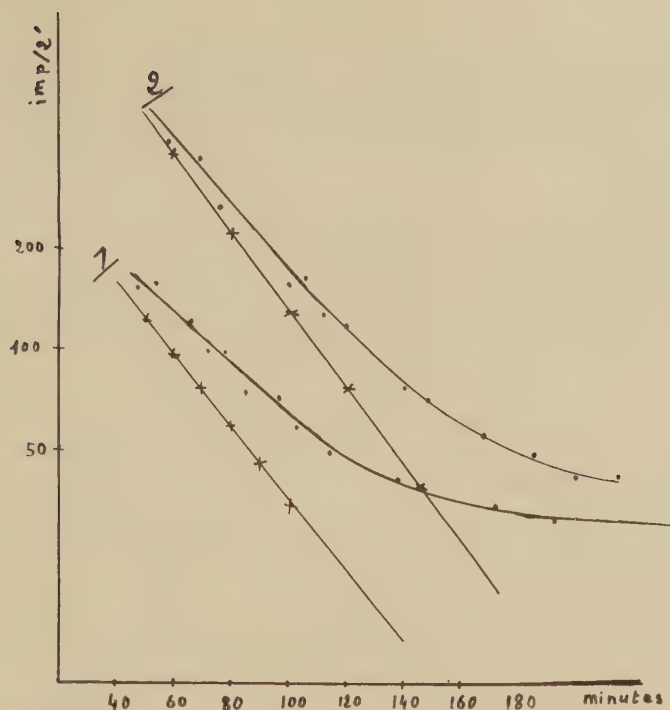


Figure 12 - 1 = courbe de décroissance de la radioactivité de l'iode contenu dans l'acide trichloroacétique.
 2 = courbe de décroissance de la radioactivité de l'iode minéral plasmatique.

l'étalon. Cependant, ce facteur peut être pratiquement éliminé en irradiant des échantillons les plus petits possible et en les rapprochant au maximum les uns des autres. Il est d'ailleurs possible de vérifier à chaque instant si le flux est bien homogène, en irradiant deux étalons encadrant une série d'échantillons. Dans les conditions où nous opérons, les étalons sont environ à 8 cm l'un de l'autre. Dans 90 p.100 des cas, la mesure de la radioactivité de ces étalons diffère de moins de 5 p.100. Dans les 10 cas restants, la différence est imputable à une impureté ou à une imperfection du traitement chimique. L'inhomogénéité de flux peut également être due à une absorption très intense des neutrons à l'intérieur des échantillons si bien que ceux se trouvant en arrière reçoivent un flux plus faible. Pour que ce facteur intervienne d'une façon sensible, il faut que l'échantillon contienne un élément possédant une section efficace d'absorption très importante ce qui est rarement le cas lorsqu'on s'adresse à des échantillons biologiques ou végétaux.

Enfin, la précision sur la mesure de la radioactivité diminue à mesure que celle-ci diminue, et comme nous le verrons plus loin, à la limite de sensibilité de la méthode, la précision statistique est de l'ordre de 10 p.100.

b) facteurs chimiques.

Il est bon de distinguer ici les deux méthodes que nous avons décrites. La première méthode nécessite un blanc de réactif puisque le traitement chimique est pratiqué avant l'irradiation. La précision sera alors d'autant plus mauvaise que le rapport des concentrations en iode de l'échantillon à celle du blanc de réactif sera plus petit.

La deuxième méthode, au contraire, est affranchie de cet inconvénient ; mais comme nous l'avons vu plus haut, en raison de la mesure de la radioactivité de ^{131}I ajouté à un taux très faible, qui se fait avec une précision moins bonne que les autres mesures de radioactivité, les deux méthodes, à ce point de vue, sont également précises.

Il est important de noter d'autre part que pour que l'entraîneur ajouté puisse valablement permettre de mesurer le rendement, il faut qu'il se trouve sous une forme chimique identique à celle de l'élément à doser. Dans le cas du dosage de l'iode dans le sérum sanguin, celui-ci se trouve essentiellement sous forme protéique. L'iode ^{131}I ajouté sous forme d'iodure ne jouera son rôle d'entraîneur que lorsque tout l'iode organique sera minéralisé. En fait, dans notre méthode par activation, la minéralisation a surtout pour but d'amener l'iode à l'état d'acide iodique. La minéralisation proprement dite, destruction de la matière organique, n'est pas indispensable car au cours de l'irradiation toutes les liaisons iode-protéine sont détruites.

Pour vérifier ce phénomène, nous avons pratiqué l'expérience suivante :

Deux lots de diiodotyrosine ont été irradiés simultanément. Le premier lot a été utilisé pour mesurer l'iode total de la diiodotyrosine. L'iode du deuxième lot a été extrait par le tétrachlorure de carbone et précipité sous forme d'iodure d'argent. Cet iode, correspond donc à de l'iode minéral, libéré de la diiodotyrosine au cours de l'irradiation. 98 p.100 de la radioactivité totale a été trouvée dans cette fraction.

Tableau V

Iode total $\mu\text{g}/\text{mg}$ de D.I.T.	565
Iode extrait par le tétrachlorure de carbone $\mu\text{g}/\text{mg}$ D.I.T.	550

A la lumière de ces résultats, il est hautement probable qu'à la fin de la minéralisation des échantillons biologiques, tout l'iode se trouve sous la même forme chimique et est distillé quantitativement après réduction par l'acide phosphoreux. Lorsque les opérations sont bien conduites, les pertes sont négligeables. Cependant, il faut constater que, étant donné la vitesse avec laquelle il est nécessaire d'effectuer toutes les manipulations chimiques lorsqu'on utilise la deuxième méthode, les pertes sont quelquefois importantes et la précision s'en ressent.

Les conditions dans lesquelles nous opérons nous permettant de traiter 8 échantillons et 2 étalons en 55 minutes avec des rendements compris entre 75 et 90 p.100 dans 80 p.100 des cas.

Dans le cas où les échantillons seraient traités avec un rendement très inférieur, il suffit d'allonger le temps de comptage pour obtenir une précision statistique suffisante. Nous avons constaté expérimentalement que la précision était de l'ordre de 5 à 6 p.100 jusqu'à des concentrations en iode de l'échantillon de l'ordre de 10^{-9} g.

4/ Sensibilité.

Calculer la sensibilité du dosage d'un élément par analyse par activation revient, d'une part à déterminer les conditions optima pour que la radioactivité spécifique de l'élément à doser soit maxima, et d'autre part, à déterminer, en tenant compte des fluctuations statistiques, la plus petite quantité de radioactivité mesurable avec les appareils dont on dispose.

a) L'étude des différents facteurs intervenant dans l'équation relative aux principes de l'analyse par activation permet de calculer la sensibilité avec laquelle on peut détecter un élément : seuls nous intéressent les facteurs variables.

- influence du poids de l'échantillon : ce facteur ne peut jouer que très faiblement car même si on peut disposer d'un échantillon important, la capacité des canaux à irradiation est limitée. L'éventualité d'une inhomogénéité du flux de neutrons ou d'une absorption des neutrons par la cible font qu'il est préférable, pour obtenir la meilleure précision possible, de n'irradier que des petits échantillons.

- influence du flux de neutrons : ce facteur est prépondérant. En effet, c'est grâce au développement des grands réacteurs nucléaires à flux élevé, que l'application de l'analyse par activation au dosage des oligoéléments a pu naître. Les flux disponibles à l'heure actuelle en France varient selon les conditions de 10^{12} à 2.10^{13} n/cm²/s ; le flux que nous avons généralement utilisé est celui de 6.10^{12} n/cm²/s et le calcul de la sensibilité a été fait d'après ce chiffre.

- influence du temps d'irradiation et du temps écoulé avant la mesure de la radioactivité.

L'irradiation à saturation de l'élément à doser et conduisant à la sensibilité maximum n'est réalisée que pour des temps infiniment longs. Cependant, celle-ci est pratiquement atteinte pour une durée d'irradiation égale à 10 fois la période du radioélément formé ; plus l'élément aura une période courte, plus la durée d'irradiation nécessaire pour obtenir la meilleure sensibilité sera faible.

Dans le cas qui nous intéresse, une irradiation de 30 minutes, comparée à la période de 25 minutes de ^{128}I , conduit à une radioactivité correspondant à la demi-saturation.

D'autre part, la nécessité d'effectuer un traitement chimique après l'irradiation, dans le cas de la deuxième méthode, la distance entre le réacteur et le laboratoire de mesure font que, dans le cas de ^{128}I , le dernier terme entre parenthèse de l'équation générale établie plus haut est toujours nettement inférieur à 1.

Le temps du transport du réacteur au laboratoire est en moyenne de 15 mn, le temps de manipulations dans le cas de la première méthode est de l'ordre de 15 mn également alors que lorsque l'échantillon doit être traité chimiquement, 45 mn sont nécessaires pour préparer un échantillon, et en 60 mn il est possible de traiter 8 échantillons.

Finalement, au moment de la mesure, la radioactivité de l'iode 128 varie entre les 2/3 et le 1/4 de la radioactivité présente à la fin de l'irradiation.

b) Quand on veut évaluer la sensibilité à partir de la plus petite quantité de radioactivité mesurable, il est difficile d'éviter un certain degré d'arbitraire. Plusieurs conventions ont été d'ailleurs avancées et il nous a semblé que la meilleure consistait à caractériser la sensibilité par la masse de l'élément qui, dans les conditions d'irradiation employées et au moment de la mesure, donne 1 000 photons par minute dans le cas du comptage par spectrométrie γ et 100 désintégrations par minute dans le cas de particules β^- , d'énergie maxima supérieure à 0,2 MeV par compteur Geiger [31] [32].

Ce point de vue est logique si l'on considère que le mouvement propre total d'un compteur à scintillation convenablement blindé est de 100 à 200 impulsions/minute, celui d'un compteur Geiger du type cloche de 10 à 15 impulsions/minute et que dans la plupart des dispositifs, l'efficacité globale de ces deux types de compteur est de 10 à 30 p.100. Le critère choisi revient donc, en gros, à représenter la sensibilité par la masse de la substance radioactive à doser qui, dans les conditions de la mesure, double le nombre d'impulsions enregistrées par rapport au mouvement propre.

Méthode par spectrométrie γ .

En tenant compte du rendement de 17 p.100 de la raie à 450 keV et d'un délai de 15 minutes entre la fin de l'irradiation et le début de la mesure pour effectuer l'extraction au tétrachlorure de carbone, 1 000 photons/minute correspondent, aux conditions de flux et de durée d'irradiation que nous utilisons, à une quantité de ^{128}I de $1,7 \cdot 10^{-9}$ g. Avec une efficacité globale de comptage de 10 p.100, le taux d'impulsions dans le canal central du pic photoélectrique est alors de 5 impulsions/mn pour un mouvement propre de 2,2 impulsions/minute et le calcul montre que pour une mesure d'une durée de 60 minutes, l'écart standard relatif est de 11 p.100. Si au lieu de l'amplitude, on utilise la surface du pic photoélectrique, l'écart standard relatif descend à 5 p.100.

En réalité, sur le plan pratique, on doit non seulement effectuer la mesure de la radioactivité de l'échantillon mais également celle du blanc et de l'étalon, ainsi qu'apprécier pour les trois le rendement de la séparation chimique. La quantité d'iode présent dans les réactifs nécessaires au traitement de la prise d'essai est de l'ordre de $8 \cdot 10^{-9}$ g. On peut, à priori, penser qu'il ne sera guère possible de mesurer avec précision une quantité d'iode sanguin inférieure à celle qui se trouve dans les réactifs. D'autre part, au début de la mesure de la radioactivité due à l'iode 131 doit être au moins 5 fois plus faible que celle due à l'iode 128 de façon que le pic photoélectrique de ce dernier se détache bien de celui de l'iode 131. Dans ces conditions, on aura pour $8 \cdot 10^{-9}$ g d'iode sanguin, le protocole opératoire suivant :

30 minutes sont nécessaires une fois l'irradiation terminée pour les opérations de séparation chimique.

La radioactivité du blanc de réactif en ^{128}I est alors de 25 impulsions/minute dans le canal central avec un mouvement propre de 2,2 impulsions/minute et une radioactivité en ^{131}I de 5 impulsions/mn. La mesure du blanc est effectuée sur 30 minutes.

Après les opérations précédentes, la radioactivité de l'échantillon est de 22 impulsions/minute pour toujours la même valeur du mouvement propre et de la radioactivité de ^{131}I . La mesure de l'échantillon est alors effectuée sur 60 minutes.

A ce stade, si l'on utilise un étalon de $0,1 \mu\text{g}$ d'iode, la radioactivité de ce dernier dans le canal central du pic photoélectrique est de 25 impulsions/minute avec 2,2 impulsions/minute pour le mouvement propre et de l'ordre de 5 impulsions/minute pour le ^{131}I . La durée de la mesure sur l'étalon est alors de 60 minutes.

Nous rappellerons ici que les mesures de radioactivité du blanc, de l'échantillon et de l'étalon doivent être effectuées par l'intermédiaire de l'amplitude du pic photoélectrique de ^{128}I (nombre d'impulsions dans le canal central) et non de sa surface, l'appréciation de cette dernière étant rendue difficile par suite de la présence du pic à 364 keV de ^{131}I .

Après quelques heures, assurant la désintégration complète de ^{128}I , la radioactivité de ^{131}I est mesurée pour le blanc, l'échantillon et l'étalon, par l'intermédiaire de la surface du pic photoélectrique à 364 keV. Cette radioactivité est de l'ordre de 50 impulsions/minute avec un mouvement propre de 44 impulsions/minute. La durée de chaque mesure est de 60 minutes.

Si, à partir des considérations exposées plus haut et du protocole précédent, on calcule l'écart standard relatif de 8.10^{-9} g d'iode, on trouve 18 p.100. On voit que par cette méthode la précision passe de 6 p.100 pour $1,18.10^{-7}$ g (tableau II) à 18 p.100 pour 8.10^{-9} g. La sensibilité de la méthode par spectrométrie γ est donc, en pratique, limitée à 10^{-8} g, limitation qui provient essentiellement du rendement d'émission à 17 p.100 des photons de ^{128}I et de la quantité d'iode contenue dans les réactifs.

Méthode par comptage β .

Elle est affranchie des deux inconvénients que l'on vient de citer et par suite beaucoup plus sensible. Si l'on tient compte d'un délai de 30 minutes pour effectuer la séparation chimique de l'iode après la fin de l'irradiation, 100 désintégrations/minute correspondent à $4,3.10^{-11}$ g d'iode. Avec une efficacité globale de comptage de 10 p.100 cette quantité correspond à 10 impulsions/minute. Le mouvement propre étant de 11 impulsions/minute et la durée de la mesure de 60 minutes, l'écart standard relatif obtenu est de 9 p.100.

Là encore, en pratique, il faut mesurer également la radioactivité ^{128}I de l'étalon et celle de ^{131}I pour l'échantillon et l'étalon. On a par exemple, pour 10^{-10} g d'iode dans l'échantillon, en tenant compte d'une efficacité globale de 10 p.100 et de la présence d'un filtre d'aluminium, les résultats expérimentaux suivants :

Echantillon 30 minutes après la fin de l'irradiation : 20 impulsions/minute dues à ^{128}I avec un mouvement propre de 11 impulsions/minute et une radioactivité de ^{131}I donnant 5 impulsions/minute. L'échantillon est compté pendant 60 minutes.

Etalon 90 minutes après la fin de l'irradiation : 40 impulsions/mn dues à ^{128}I avec les mêmes valeurs du mouvement propre et de ^{131}I que pour l'échantillon. L'étalon est également compté pendant 60 minutes.

Après décroissance complète de ^{128}I , la radioactivité mesurée de ^{131}I pour l'échantillon et l'étalon par la surface du pic photoélectrique à 364 keV donne environ 30 impulsions/minute pour un mouvement propre de 48 impulsions/minute. La durée de chacune des deux mesures de radioactivité de ^{131}I est de 60 minutes.

Dans ces conditions, les considérations développées plus haut montrent que l'écart standard relatif est de 12 p.100.

On peut donc considérer que la sensibilité de la méthode par comptage β est de 10^{-10} g, 100 fois supérieure à celle de la méthode par spectrométrie γ .

E - TROISIEME METHODE -

Dosage de l'iode dans le tissu thyroïdien par spectrométrie γ , sans traitement chimique de l'échantillon.

Les concentrations relatives de l'iode et des autres éléments minéraux, principalement le chlore et le sodium, dans le tissu thyroïdien, permettent d'envisager une méthode de dosage directe de l'iode sans l'obligation de pratiquer un traitement chimique ; quoique nécessitant un appareillage complexe, la méthode mise au point permettrait des dosages extrêmement rapides.

La figure (13 c) montre le spectre γ d'une thyroïde de rat irradiée pendant une demi-heure dans un flux de neutrons de $6.10^{12}\text{n/cm}^2/\text{s}$ et pratiqué 15 minutes après la sortie du réacteur.

Il montre principalement un pic photoélectrique à 1,36 MeV correspondant au sodium 24 accompagné par un fond Compton vers les basses énergies. Ce dernier est dû à l'interaction d'un photon γ incident avec les électrons peu liés des atomes constituant le cristal détecteur. Le photon diffusé qui en résulte, dont la longueur d'onde aura augmenté et l'énergie diminuée, peut à nouveau entrer en collision avec un autre électron ou sortir du cristal détecteur sans être absorbé. Les électrons de recul formés posséderont des énergies variables mais toujours inférieures à celles du photon incident.

Pour les détecteurs classiques de quelques centimètres de diamètre et dans le cas des émetteurs γ énergiques comme le sodium 24 par exemple, le phénomène de diffusion Compton est intense et se traduit par la présence sur le spectre du radioélément d'un fond couvrant un domaine d'énergie très large, dû à la variété des énergies de ces électrons de recul, inférieur à l'énergie du pic photoélectrique.

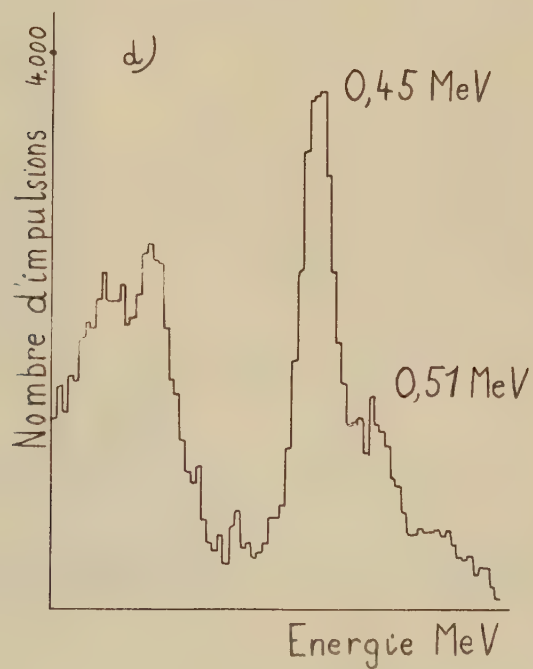
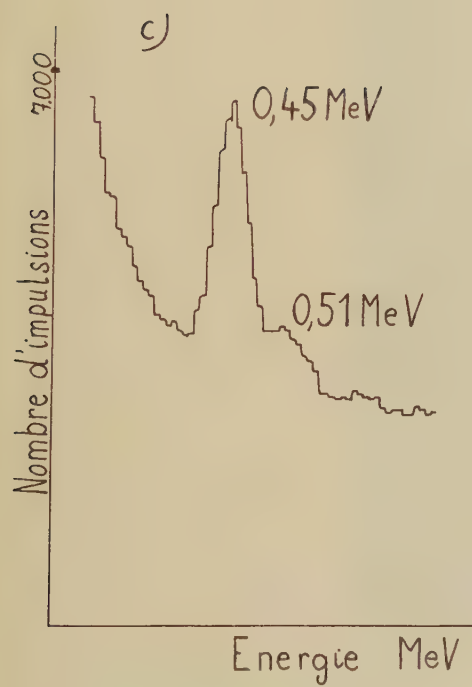
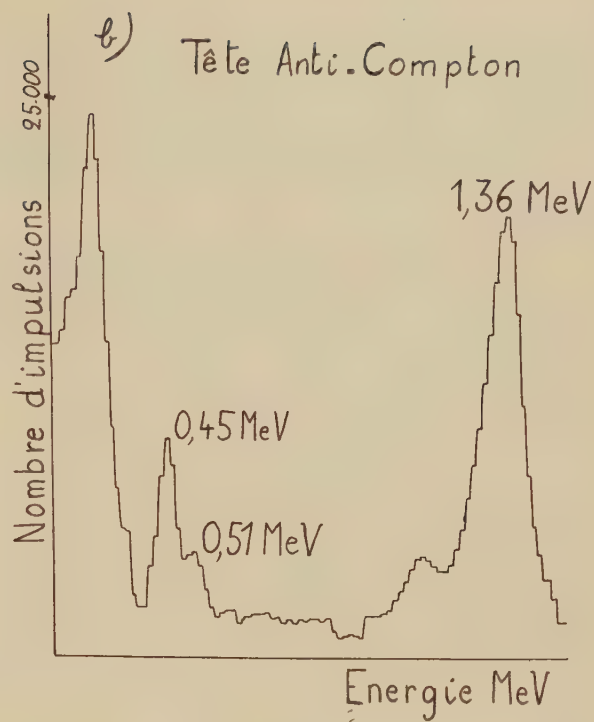
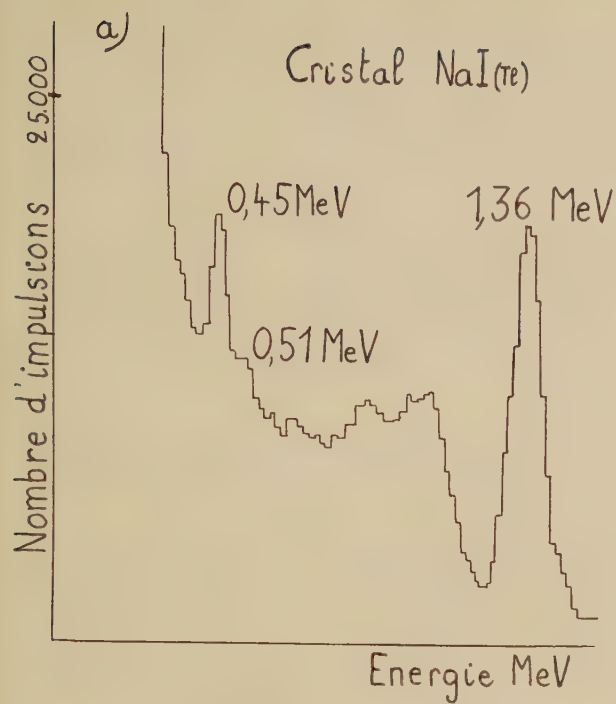


Figure 13 - Spectres obtenus après irradiation de thyroïdes de rats.
 a et c = spectrométrie classique.
 b et d = spectrométrie anti-Compton.

En particulier ce fond Compton gêne considérablement l'apparition du pic photoélectrique de l'iode 128 à 450 keV et si sur la figure (13 c) ce pic est visible parce que la concentration en sodium est faible, la mesure précise de sa surface est difficile car elle sera toujours petite par rapport à celle qui revient au sodium et qui lui est sous-jacente.

Afin de limiter au maximum cette influence des radioéléments émetteurs de rayonnement γ énergiques, il nous a semblé intéressant d'appliquer le dispositif de soustraction du fond Compton décrit par Pierson [33] et repris en France par Julliot [34] au cas du dosage de l'iode dans le tissu thyroïdien.

La méthode consiste à disposer la source radioactive contenant l'iode et le sodium entre deux détecteurs, l'un muni d'un scintillateur d'iodure de sodium activé au thallium, l'autre d'un cristal d'antracène. Le premier enregistrera un spectre classique (figure 13 c) comprenant les différents pics photoélectriques émergeant des distributions Compton. Le second détecteur ayant une très faible section efficace pour l'effet photoélectrique n'enregistrera que le spectre Compton du mélange. La figure 14 montre le système de détection utilisé comprenant la tête anti Compton reliée au spectromètre γ à 100 canaux à mémoire magnétique.

Les impulsions issues de chaque détecteur sont ensuite soustraites les unes des autres par un dispositif électronique approprié. Le spectre finalement enregistré ne présente alors que les pics photoélectriques caractéristiques de l'iode 128 et du sodium 24.

La figure (13) montre en (a) un spectre classique, en (b) le même échantillon représenté dans un domaine d'énergie plus étendu et montrant les amplitudes relatives des pics de l'iode 128 à 450 keV et du sodium 24 à 1,36 MeV.

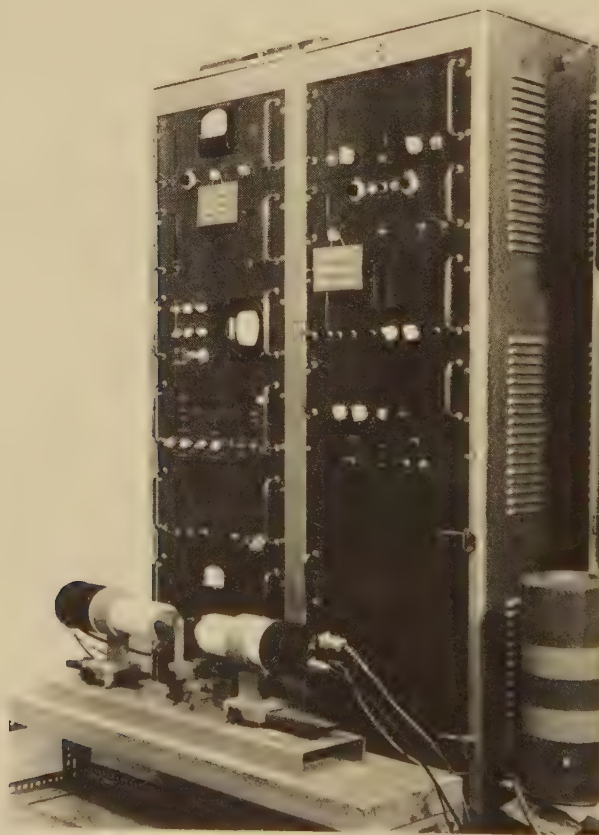


Figure 14 - Spectromètre γ à 100 canaux à mémoires magnétiques et dispositif de détection anti-Compton.

CHAPITRE III

APPLICATION AU DOSAGE DE L'IODE DANS DIFFÉRENTS ÉCHANTILLONS BIOLOGIQUES

Des trois méthodes que nous avons utilisées, celle dont les possibilités d'application sont les plus importantes est la méthode pratiquant le traitement chimique après irradiation, et la mesure de la radioactivité par comptage β . En effet, comme nous l'avons vu, c'est la méthode la plus sensible, puisqu'elle permet de mesurer des concentrations de l'ordre de 10^{-10} g et, étant affranchie de la nécessité d'un blanc de réactif, elle peut s'appliquer à des échantillons de toute nature et de volume relativement élevé.

La première méthode décrite, de mise en oeuvre plus délicate, nous a permis de tester sa précision comparativement à une méthode chimique classique. Quant à la troisième méthode, par spectrométrie anti-Compton, sans traitement chimique, elle est encore limitée à des mesures dans des échantillons très riches en iode.

Utilisant généralement la deuxième méthode, nous avons envisagé son application au dosage de l'iode sous différentes formes chimiques et dans différents types d'échantillons.

1 - DOSAGE DE L'IODE MINÉRAL PLASMATIQUE

Les données relatives au taux d'iode minéral dans le plasma, chez le sujet normal, sont extrêmement rares, et à notre connaissance aucune méthode analytique ne permettait cette mesure directement. Par contre, une méthode indirecte, par dilution isotopique, décrite par Gerbaulet [34] a permis de constater avec une certaine précision, que le taux de l'iode minéral plasmatique est de l'ordre de 1 à 2 μ g par litre. Grâce à l'analyse par activation, il est possible de mesurer des concentrations de cet ordre de grandeur et nous avons essayé de vérifier les données de cet auteur.

Mode opératoire.

La nécessité d'utiliser un réactif chimique pour précipiter les protéines avant l'irradiation de l'échantillon conduit inévitablement à l'introduction d'une contamination et oblige à faire un blanc de réactif.

Une série de 4 dosages a été pratiquée sur un même échantillon de sérum sanguin : dans chacun des 8 tubes à centrifuger, nettoyés dans les mêmes conditions, il a été versé 2 cm³ d'acide trichloracétique à 20 p.100. Dans 4 de ces tubes, il a été ajouté 2 cm³ de sérum sanguin.

Après agitation et centrifugation, le liquide surnageant des 4 tubes a été transféré dans les récipients d'irradiation. L'acide trichloracétique des 4 tubes n'ayant pas reçu de sérum a également été conditionné de la même manière. Après irradiation, l'iode a été dosé selon la deuxième méthode décrite (figure 12). Le tableau VI montre le résultat obtenu.

Les chiffres de la 2ème colonne sont obtenus après soustraction du blanc de réactif correspondant au chiffre de la première colonne. La différence entre les résultats de cette petite série de dosages et de ceux publiés par Gerbaulet [35] peuvent laisser supposer que dans le surnageant trichloracétique une partie de l'iode peut être liée à des molécules organiques non précipitables par l'acide trichloracétique.

Tableau VI

Echantillon	μg d'iode/ cm^3 d'acide trichloracétique à 20 p. 100	μg d'iode minéral extrait de 1 cm^3 de sérum
1	$1,76 \cdot 10^{-3}$	$4,20 \cdot 10^{-3}$
2	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$3,9 \cdot 10^{-3}$
3	$2,05 \cdot 10^{-3}$	$4,05 \cdot 10^{-3}$
4	$1,90 \cdot 10^{-3}$	$3,90 \cdot 10^{-3}$

2 - DOSAGE DE L'IODE HORMONAL DU SÉRUM SANGUIN

Les mesures ont été pratiquées après avoir séparé les différents composés iodés plasmatiques selon la méthode de Blanquet [36]. Cette méthode utilisée principalement pour mesurer la radioactivité de l'iode protéique plasmatique au cours d'exploration fonctionnelle de la thyroïde, consiste à fixer l'iode lié à la thyroxine sur une résine Dowex 50 $\times$ 4, l'iodure sur une résine Dowex 1 $\times$ 2, l'iode organique non fixé par ces deux résines constitue la fraction d'iode non hormonal. Le protocole opératoire consiste à filtrer 2 ou 3 cm^3 de sérum sanguin sur deux petites colonnes de résine d'environ 3 cm^3 contenant la première la Dowex 50 $\times$ 4 et la deuxième la Dowex 1 $\times$ 2 et de mesurer la radioactivité de chaque colonne et de l'effluent.

Nous avons été obligé de modifier légèrement le mode opératoire car la concentration de la résine anionique Dowex 1 $\times$ 2 en iode 127 a été trouvée très importante (environ 1 $\mu\text{g/g}$ de résine), ce qui aurait rendu sans valeur les analyses pratiquées sur l'effluent de cette résine correspondant à la fraction iodée protéique non hormonale. Par contre, la teneur en iode 127 de la résine cationique Dowex 50 $\times$ 4 a été trouvée beaucoup plus faible et nous a permis d'envisager la possibilité de mesurer directement l'iode lié à la thyroxine, fixé sur cette résine.

Compte tenu de ces remarques, le mode opératoire est le suivant : après avoir abondamment lavé un lot sélectionné de Dowex 50 $\times$ 4 jusqu'à ce que le taux d'iode de la résine soit constant et de l'ordre de 0,003 $\mu\text{g/g}$ de résine humide, celle-ci est versée à raison de 3 cm^3 dans une petite colonne en polythène de 1 cm de diamètre et de 5 cm de hauteur, le fond de la colonne ayant été muni d'un petit tampon de laine de quartz.

2 cm^3 de sérum sont versés au sommet de la colonne et filtrent par gravité à travers la résine dans un petit tube également en polythène. Les protéines du filtrat sont précipitées par l'acide trichloracétique à 20 p. 100 puis la résine est rincée par de l'eau distillée jusqu'à ce que le filtrat ne précipite plus par l'acide trichloracétique. Le précipité finalement obtenu est lavé 3 fois avec de l'eau bidistillée pour éliminer le chlore en excès dont la radioactivité induite après irradiation serait très importante.

La colonne contenant la résine ayant fixé l'iode hormonal et le tube contenant le précipité sont scellés et irradiés en même temps qu'un échantillon du sérum non traité et un étalon d'iodé 127.

Le traitement chimique classique est ensuite pratiqué selon la méthode n° 2 exposée précédemment. Une correction est faite dans le cas du dosage de l'iode lié à la thyroxine pour tenir compte de l'iode contaminant la résine échangeuse d'ions.

Les résultats consignés dans le tableau VII ont été obtenus à partir du sérum de sujets normaux thyroïdiens.

Les colonnes 1, 2, et 4 montrent des valeurs mesurées directement alors que la colonne 3 correspond à la différence entre le chiffre d'iode total plasmatique et le chiffre de l'iode lié à la thyroxine. Il devrait représenter l'iode protéique non hormonal seul, étant donné la très faible quantité d'iodure présente normalement dans le sérum sanguin. Néanmoins, la moyenne de cette colonne (1,54 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) comparée à celle de la deuxième colonne représentant l'iode protéique non hormonal, mesurée directement, laisse apparaître une différence d'environ 0,60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. La seule explication possible de cette différence est de supposer que dans le sérum de plusieurs sujets normaux de cette série, il se trouve une quantité d'iode minéral non négligeable, vraisemblablement apporté par l'alimentation de sujets qui n'étaient pas à jeun ou par la pâte dentifrice utilisée le matin.

Tableau VII

Noms	Iode lié à la thyroxine μ g/100 ml	Iode protéi- que non hormonal μ g/100 ml	Iodé protéique non hormonal + iodure μ g/100 ml	Iode total plasmatique μ g/100 ml
M. H.	3,96		1,38	5,34
M. B.	3,32		3,38	6,70
M. A.	3,77		0,64	4,41
M. A.	4,00	1,30		5,30
M. V.	4,00		0,50	4,50
M. L.	4,17		1,00	5,26
M. D.	4,12	0,79		4,90
M. T.	4,50	0,96		7,36
M. G.	4,30		1,10	5,40
M. Ch.	4,15		0,55	4,70
M. T.	4,20		2,10	6,30
M. C.	4,75		3,20	7,95
M. D.	5,00		1,25	6,25
M. C.	4,85		1,40	6,25
M. K.	5,90		0,85	6,75
M. L.	5,00	1,20		6,10
M. R.	6,37		1,08	7,45
M. A.	6,60		1,00	7,60
M. D.	6,45		2,55	9,00
M. R.	6,20	0,75		6,95
M. G.	7,30	0,94		8,15
Moyenne	4,85	0,92	1,54	6,33
σ	$\pm 1,09$		$\pm 0,86$	$\pm 1,53$
	$4,85 \pm 22$ p. 100	0,92	$1,54 \pm 56$ p. 100	$6,33 \pm 24$ p. 100

3 - DOSAGE DE L'IODE DANS LES ALIMENTS

Grâce à la bonne sensibilité de la méthode, le dosage de l'iode sur de petites quantités d'aliments devient possible. Une série d'aliments d'origines diverses, congelés ou en conserve ont été sélectionnés en vue d'établir un régime dont la teneur en iode serait constante.

Les prises d'essais ont varié de 0,5 à 2 g de produit. Ces aliments ont été scellés dans des tubes en polythènes dès leur prélèvement, après irradiation, le traitement chimique a été pratiqué et la mesure de la radioactivité a été faite par comptage β .

Le tableau VIII montre les résultats obtenus. Lorsque plusieurs chiffres sont indiqués en regard du même aliment, ils résultent du dosage de l'iode des échantillons de différents lots.

Tableau VIII

	Iode en μ g/100 g		
Lait en poudre	29,8	34,6	
<u>Fruits</u>			
Compote de pommes	0,19		
Quetsches en conserve au naturel	0,35		
Abricots en conserve au naturel	0,50		
Mirabelles en conserve au naturel	0,46		
<u>Légumes</u>			
Légumes en conserve homogénéisés	0,35		
Carottes en morceaux	1,65		
Endives	0,40		
Petits pois congelés	0,35	0,40	
Haricots verts congelés	0,65	0,80	
Fonds d'artichauts en conserve	12,60	10,80	
Endives en conserve	0,26		
Potirons en conserve (poudre)	11,20		
<u>Viandes</u>			
Boeuf (filet)	2,30	2,40	2,12
Veau (filet)	2,40		
Pain	2	2,80	1,70
Pâtes	0,70		
Riz	0,40		
Sucre	0,45		

CONCLUSION

Le but de cette étude a été de montrer que l'analyse par activation appliquée au dosage de l'iode dans les milieux biologiques permet de mesurer des taux d'iode de l'ordre de $0,0001 \mu\text{g}$.

Après avoir rappelé le principe des méthodes chimiques utilisées jusqu'à présent et étudié leurs possibilités, nous avons établi les conditions optima pour réaliser le dosage de l'iode dans les liquides biologiques. Ainsi, trois méthodes ont été mises au point :

- La première consiste à pratiquer un traitement chimique libérant l'iode protéique sous forme minérale. Cet iode après avoir été séparé par distillation est irradié dans un flux de neutrons thermiques. La radioactivité induite est mesurée comparativement à un étalon traité dans les mêmes conditions, par spectrométrie γ .

- La deuxième méthode, d'application plus générale, consiste à irradier l'échantillon, puis à extraire l'iode radioactif chimiquement et enfin à pratiquer la mesure de la radioactivité par comptage β . Bien conduite, cette méthode donne les mêmes garanties de spécificité et de précision que la précédente et sa sensibilité est nettement supérieure du fait principalement de l'absence d'un blanc de réactif. Son utilisation en routine permet de faire une quinzaine de dosages par jour.

Dans l'une ou l'autre de ces deux méthodes, les pertes occasionnées par le traitement chimique sont mesurées avec précision grâce à l'addition d'une quantité connue d'iode 131 sans entraîneur, avant les manipulations.

- La troisième méthode constitue un essai de dosage direct dans un milieu particulièrement riche en iode. Le traitement chimique est supprimé et la mesure de la radioactivité est pratiquée dès la fin de l'irradiation à l'aide d'un dispositif anti-Compton associé à un spectromètre γ .

La première et la deuxième méthode ont fait l'objet d'une étude de la précision et ont été, sous cet angle, comparées à une méthode chimique classique.

La deuxième méthode, beaucoup plus sensible, a été généralement utilisée, en particulier pour mesurer l'iode lié à la thyroxine dans le sérum sanguin et l'iode dans un certain nombre de denrées alimentaires. Un essai de dosage de l'iode minéral plasmatique a permis de vérifier que la sensibilité de détection rend possible la mesure avec une bonne précision de concentrations de l'ordre de $0,001 \mu\text{g}$.

Utilisée depuis deux ans environ, cette méthode a permis de pratiquer des dosages chez de nombreux sujets normaux, hypo ou hyperthyroïdiens, aussi bien dans le sérum sanguin que dans les urines et les selles. Des contrôles périodiques, faits avec un sérum étalon, le "Versatol" ont permis de vérifier que les résultats étaient reproductibles au cours du temps.

On peut donc penser qu'étant donné la variété des échantillons analysables, le nombre des mesures qu'il est possible de faire simultanément, la précision avec laquelle les résultats peuvent être obtenus et la sensibilité de détection de l'iode par analyse d'activation, cette méthode rendra de grands services dans le domaine de la physiopathologie thyroïdienne.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SANDELL E.B. et KOLTHOFF I.M. - Microdetermination of iodine by a catalytic method. *Microchim. Acta*, 1937, 1, 9
- [2] BARKER S.B., HUMPHREY M.J. et SOLEY M.H. - The clinical determination of protein bound iodine. *J. Clin. Invest.*, 1951, 30, 55
- [3] SALTER W.T. et Mc KAY E.A. - Iodine in blood and thyroids of man and small animals. *Endoc.*, 1944, 35, 380
- [4] HUNTER A. - The determination of small quantities of iodine, with special reference to the iodine content of the thyroid gland. *J. Biol. Chem.*, 1910, 7, 321
- [5] PER FOSS O., HANKES L.V. et VAN SLYKG D.D. - A study of the alkaline ashing method for the determination of protein bound iodine in serum. *Clin. Chem. Acta*, 1960, 5, 301
- [6] WIDSTROM G. et BJORKMANN M. - Alkaline incineration of iodine-containing organic material. *Acta Chem. Scand.*, 1958, 12, 1881
- [7] RIGGS D.S. et MANN E.B. - A permanganate acid ashing micromethod for iodine determinations. *J. Biol. Chem.*, 1940, 134, 193
- [8] CHANEY A.L. - Improvements in determination of iodine in blood. *Ind. Engng. Chem., anal. ed.*, 1940, 12, 179
- [9] SOBEL H. et SAPSIN S. - Modified procedure for determination of protein bound iodine in serum. *Anal. Chem.*, 1952, 24, 1829
- [10] MORAN J.J. - Factors affecting the determination of protein bound iodine in serum. *Anal. Chem.*, 1952, 24, 378
- [11] TAUROG A., CHAIKOFF I.L. - On the determination of plasma iodine. *J. Biol. Chem.*, 1946, 163, 313
- [12] BARKER S.B. - Determination of protein bound iodine. *J. Biol. Chem.*, 1948, 173, 715
- [13] LACHIVER F. et LELOUP J. - Microdosage de l'iode sanguin. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949, 31, 5/6, 488
- [14] SPITZY H., REESE M., SKRUBE H. - Eine neue, einfache Jodbestimmung im Blutserum unter Anwendung der Isothermdiffusion. *Microchim. Acta*, 1958, 4, 488
- [15] TALBOT B. et all. - The colorimetric estimation of protein bound serum iodine. *J. Biol. Chem.*, 1944, 153, 479
- [16] FASHENA G.L. et TREVORROW V. - The determination of iodine in biological material. *J. Biol. Chem.*, 1935, 110, 29
- [17] FASHENA G.L. et TREVORROW V. - A note on the determination of iodine in biological material. *J. Biol. Chem.*, 1936, 114, 351
- [18] LACHIVER F. - Etude du microdosage de l'iode par la méthode catalytique. Thèse Faculté des Sciences de Paris, 1954, Masson ed. 1956
- [19] FISCHL J. - Determination of protein-bound iodine in microamounts of serum or plasma. *Clin. Chim. Acta*, 1956, 1, 462
- [20] PIETTE M. - Dosage de l'iode protéique. Fiche technique APDILLA. Mars 1960

- [21] BLOCK R.J. et WERNER S.C. - The probable présence of diiodotyrosine and monoiodotyrosine in human serum. A discrepancy between the distribution of iodo-compounds when estimated by I-131 and by I-127. Arch. Biochem. And Biophys., 1960, 88, 1, 98
- [22] WALTER B.A., HENRY B.J., WARE A.G. et STARR P.J. - Laboratory and clinical evidence of the reliability of the alkaline-incinerator method of serum protein-bound iodine measurement. J. Lab. Clin. Med., 1960, 55, 643
- [23] KELLERSHOHN C., COMAR D. et LE POEC C. - Détermination de l'iode sanguin par analyse d'activation. Int. J. of applied Rad. isotop., 1961, 12, 87
- [24] COMAR D., LE POEC C., JOLY M. et KELLERSHOHN C. - L'analyse par radioactivation. Application à la détermination de l'iode, du mercure, du cuivre, du manganèse et du zinc dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chim. fr., 1962, 56
- [25] BOWEN J.M. - The determination of chlorine, bromine and iodine in biological material by activation analysis. Biochem. J., 1959, 73, 2, 381
- [26] WAGNER H.N., WIL I.R. et NELP B. - Use of neutron activation analysis for studying stable iodide uptake by the thyroid. J. clin. Invest., 1961, 40, 1984
- [27] DIMITRIADOU A., TURNER P.C.R., SALTER J.D.H. et FRASER R. - Iodotyrosine-like material in serum detected by analysis for I-127 but not I-131. Biochem. J., 1962, 82, (2), 20 p.
- [28] MANNEY T.R., LAROCHE G., PADDEN R.E. and TOBIAS C.A. - Measurement of serum organically-bound iodine by neutron activation. In LAWRENCE J.H. - Semiannual report biology and medecine, Donner Laboratory 1961., UCRL-9897 -University of California, Lawrence Radiation Laboratory
- [29] STROMINGER D., HOLLANDER J.M. et SEABORG G.T. - Table of isotopes. Rev. Med. Phys., 1956, 10, 83.
- [30] CROUTHAMEL C.E. - Applied γ ray. Spectrometry. Pergamon Press - Paris, 1960
- [31] KOCH R.C. - Activation analysis handbook. Academic Press-Paris, 1960.
- [32] JENKINS E.N. et SMALES A.A. - Radioactivation analysis. Quart. Rev. Chem. Soc., 1956, 10, 83
- [33] PIERSON D.H. - A two-crystal gamma rays scintillation spectrometer. Nature, (G.B.), 1954, 173, 990
- [34] JULLIOT C. - Spectrographe γ enregistreur avec élimination du bruit de fond Compton. Rapport C.E.A. N° 1428, 1960
- [35] GERBAULET K. et MAURER W. - Ueber eine methode zur bestimmung der absoluten. Jodidaufnahme in der schilddrüse sowie über eine indirekte. Methode zur bestimmung der konzentration des anorganischen Jods im Serum. Radioaktive Isotope in Klinik un Forschung, Urban und Schwarzenberg. MUNCHEN, 1958, 3, 153.
- [36] BLANQUET P., MEYNIEL G. et SAVOIE J.C. - Résines échangeuses d'ions et métabolisme thyroïdien. Déterminations quantitatives portant sur le plasma. C.R. Acad. Sciences, 1960, 250, 217.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	21
CHAPITRE I - Etude critique des Méthodes chimiques du dosage de l'iode dans les tissus biologiques.....	23
CHAPITRE II - Dosage de l'iode par analyse d'activation.....	27
CHAPITRE III - Application au dosage de l'iode dans différents échantillons biologiques...	53
CONCLUSION.....	57
BIBLIOGRAPHIE.....	59

Vu et approuvé
Paris le 12 Juin 1962
G. VALETTE

Vu
et permis d'imprimer
Le Recteur
de l'académie de Paris
Jean SARRAILH

IMP. LOUIS-JEAN -- GAP

Dépôt légal n° 121 - 1963

